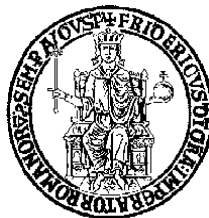


**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II**



**FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA**

Dottorato di Ricerca in Scienze Cliniche e Farmaco- Tossicologiche Veterinarie

XXV Ciclo

Coordinatore: Chiar.mo Prof. Paolo Ciaramella

Tesi in

**Medicina Interna degli Animali Domestici**

**ASSETTO ENDOCRINO – METABOLICO, PROFILO  
BIOUMORALE E VALUTAZIONE  
CARDIOVASCOLARE IN CANI AFFETTI DA  
OBESITA’**

**Docente Guida:**

Chiar.mo Prof. Paolo Ciaramella

**Candidato:**

Dott.ssa. Rosa Morgia

**Triennio 2010 - 2013**

## **INDICE**

<b>ABSTRACT .....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUZIONE .....</b>	<b>5</b>
<b>PARTE GENERALE .....</b>	<b>16</b>
<b>PARTE SPERIMENTALE .....</b>	<b>81</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>110</b>

## **ABSTRACT**

Obesity is the most common form of malnutrition occurring in dog; it have an prevalence estimated between 24 % and 44 %, with a range of age between 5 and 10 years. Health risks associated with obesity in dogs are similar to those occurring in humans, and include various disease as well as compromised immune function.

The aim of this study is to evaluate and correlate the cytokine network, cardiovascular parameters, metabolic panel, morphometric measurements, fat measurement obtained with radiology, ultrasound and impedenziometric assessment in obese dogs, in order to develop new tools to determine the overweight status in this species.

This study was carried out between january 2011 and december 2012 and 175 dogs have been enrolled. 40 dogs of them were selected and divided in 21 (group obese -ob) and 19 animals (controls group -np); on each animal a biochemical panel, complete blood cell count, blood gas analysis, ultrasound and x-ray of lumbar and sacral spine (L6- S1), ECG, echocardiography, leptin, adiponectin, TNF-alpha and IL-6, morphometric measurements and bioelectrical impedance were performed. A brief questionnaire about diet was obtained by owners of the 40 dogs.

The result of this study demonstrate that on the dogs enrolled the modification endocrine-metabolic are similar to that reported in human medicine as regards the values of adipokines, which have proved to be excellent indicators of obesity in dogs. Among the techniques objective evaluation of the degree of lipid infiltration, the radiological seems to be able to provide the best results. It hoped that as well as bioelectrical impedenziometria althought future studies are necessary to confirm the usefulness of this last diagnostic method.

## **INTRODUZIONE**

L'obesità è una condizione patologica caratterizzata dall'eccessivo deposito di grasso che porta a modificazioni di varie funzioni organiche, con conseguenze dannose per la salute degli animali. Quando si ha un prolungato squilibrio tra l'apporto ed il consumo di energia, l'energia assunta in eccesso si accumula prevalentemente sotto forma di grasso di deposito sia a livello sottocutaneo che viscerale, cui consegue un incremento ponderale ed uno squilibrio tra massa magra e grassa, a favore di quest'ultima.

Le condizioni di sovrappeso ed obesità, dovute ad un'eccessiva assunzione di energia rispetto a quella necessaria per il fabbisogno giornaliero, sono attualmente molto frequenti, in seguito al processo di industrializzazione e alla migliore qualità di vita, che si riflette sugli animali che vivono a stretto contatto con l'uomo.

Allo stato attuale l'obesità è la malattia nutrizionale più comune nel cane, con una prevalenza che varia dal 24% al 44% degli animali portati a visita, con profonde differenze a seconda dell'origine geografica degli studi epidemiologici effettuati in quest'ultimi anni (Tabella 1). Paradossalmente sembra che nel vecchio continente tale disturbo sia più diffuso, con valori più alti nel nostro Paese e in Francia. Tale apparente differenza potrebbe essere legata al maggior impiego di diete casalinghe rispetto a quelle bilanciate di origine

industriale, ancora non completamente diffuse, oppure, al numero ridotto di animali arruolati come campione rispetto a quello riportato negli studi condotti oltreoceano. Comunque si può tranquillamente considerare una prevalenza media di cani obesi intorno al 20-25% della popolazione che vive nei paesi più industrializzati. (Mason, 1970; Meyer et al., 1978; Edney e Smith, 1986; Armstrong e Lund, 1996; Robertson, 2003; Colliard et al., 2006; Mussa et al., 2006).

*Tabella 1 - Frequenza dell'obesità nella popolazione canina*

<i>Bibliografia</i>	<i>Paese</i>	<i>Osservazioni</i>	<i>Incidenza</i>
Mason, 1970	Regno Unito	1000	28%
Meyer et al, 1978	Germania	266	30%
Edney e Smith, 1986	Regno Unito	8268	24%
Armstrong e Lund, 1996	USA	23000	25%
Robertson, 2003	Australia	860	25%
Colliard et al, 2006	Francia	616	38%
Mussa et al, 2006	Italia	350	35%

Stabilire uno stato di nutrizione ideale, ovvero una condizione di normopeso è di estrema importanza nella comune pratica ambulatoriale, in quanto la condizione di sovrappeso o di obesità influisce negativamente sulla salute dell'animale e sulla sua longevità, oltre ad essere un fattore predisponente verso numerose patologie endocrine, cardiovascolari, muscolo- scheletriche, etc. Non bisogna

altresì sottovalutare gli effetti dell'obesità per quanto concerne l'aumentato rischio di complicanze anestesiológicas, piuttosto frequenti nella pratica clinica; esse sono probabilmente associate alla difficoltà di smaltimento dei farmaci somministrati che possono accumularsi e permanere per più tempo nel tessuto adiposo (Clutton 1988).

Ulteriori disturbi associati o esacerbati da una condizione di obesità includono dispnea, distocie, problemi dermatologici e riduzione della funzione immunitaria (Buffington, 1994; Newberne 1966; Williams and Newberne, 1971); inoltre nel cane sono state associate all'obesità anche patologie del cavo orale e del tratto urinario (Lund et al., 2005); l'aumento del peso corporeo e l'obesità sono, infatti, strettamente correlati ad un aumentato rischio per la formazione di urolitiasi e predispongono allo sviluppo di cancro (Lakcharoensuk et al., 2000).

Per quanto attiene le patologie endocrine, l'obesità si associa frequentemente a diabete mellito, ipotiroidismo e iperadrenocorticism (Krook et al., 1960; Roche et al., 1991; Dixon et al., 1999; Hoenig, 2002). Il 40% delle cagne colpite da queste affezioni endocrine sarebbe difatti obeso, anche se è piuttosto difficile stabilire quale sia la condizione primaria (Laflamme 2006). In medicina umana l'obesità è strettamente associata ad insulino-resistenza, ipertensione, iperlipidemia e patologie cardiovascolari. Nel 1999 la World Health Organization (WHO) ha correlato queste patologie classificandole come condizione unica, con il termine di Sindrome Metabolica (MetS); essa è definita come un'aumentata resistenza all'insulina e diminuita tolleranza al glucosio, associati a due o più dei disturbi seguenti: ipertensione arteriosa sistemica,



obesità (indice di massa corporea (BMI) > 30), riduzione di colesterolo HDL, aumento di trigliceridi e microalbuminuria. Sebbene la sindrome metabolica non sia stata ben definita in campo veterinario, i cani obesi presentano un rischio maggiore di dislipidemia, rischio che si evidenzia con un aumento dei tassi plasmatici di colesterolo e di trigliceridi, i quali tendono a ridursi con la perdita di peso (Yamka et al., 2006; Yamka and Friesen, 2006; Jeusette et al., 2004, 2005; Sunvold et al., 1998; Diez et al., 2004). È stato altresì riportato che l'eccesso di grasso corporeo predispone i cani ad una condizione diabetogena, è può contestualmente essere un aggravante nei soggetti affetti primariamente da tale disendocrinia (Mattheeuws et al., 1984; Nelson et al, 1990; Nelson 1990; Panciera et al., 1990).

Anche i cani obesi hanno una maggiore predisposizione a sviluppare malattie cardiovascolari che si esprimono con insufficienza cardiaca congestizia (Edney and Smith, 1986); in aggiunta a ciò è stato accertato che l'aumento di peso corporeo provoca ipertensione arteriosa, la quale a sua volta può divenire causa di rimodellamento cardiaco, soprattutto a livello di atrio destro e ventricolo sinistro (Rocchini et al., 1987, 1989; Buffington, 1994). Come è noto infatti, il fegato ed il tessuto adiposo producono angiotensinogeno, una glicoproteina appartenente alla classe delle  $\alpha_2$ -globuline, dalla quale, grazie all'azione dell'enzima renina, deriva l'angiotensina I e II. La forte correlazione esistente tra obesità ed ipertensione implica che l'eccesso di tessuto adiposo può giocare un ruolo diretto nella regolazione della pressione arteriosa sistemica (Frederich et al., 1992). L'incremento ponderale comunemente è accompagnato ad aumento della frequenza cardiaca, della massa ventricolare, della pressione

arteriosa e del volume plasmatico, spiegando, in tal modo, lo stretto binomio patologie cardiovascolari/obesità.

Molti cani obesi sono inoltre soggetti a disordini ortopedici di natura traumatica e/o degenerativa (Edney and Smith, 1986). Inoltre, la gravità delle osteoartriti è maggiore nei cani in sovrappeso o obesi (Kealy et al., 2002). In questi animali, in aggiunta, all'incremento dello stress meccanico a carico delle articolazioni, il grasso corporeo produce diversi mediatori chimici dell'infiammazione (Eisele et al., 2005; Trayhurn and Wood, 2004), i quali possono contribuire o essere causa stessa di osteoartrite (Sowers et al., 2002).

Dal punto di vista patogenetico la stretta correlazione tra le diverse malattie e l'obesità è mediata da numerose citochine, ormoni e, non da ultimo, dallo stress ossidativo. Infatti gli adipociti, oltre a fungere da deposito energetico, sono in grado di produrre e secernere numerose citochine ed ormoni, molti dei quali sono peptidi pro infiammatori, capaci di esacerbare ancor più lo stato di obesità (Trayhurn, 2006; Gayet et al., 2004). A tale disturbo, di conseguenza potrebbe, secondo le più recenti ricerche, essere correlata anche una condizione di infiammazione cronica di grado lieve, che coinvolge l'intero organismo. Gli ormoni ed i mediatori chimici prodotti dal tessuto adiposo giocano, infatti, un ruolo fondamentale nei meccanismi dell'infiammazione (Plomgaard et al., 2005). Per esempio l'adiponectina è un peptide del tessuto adiposo con capacità protettive nei confronti dello stato infiammatorio, i cui livelli plasmatici sono inversamente proporzionali al grado di obesità, e direttamente correlati a fenomeni di insulino - resistenza (Pischon et al., 2004). Un altro peptide prodotto dal tessuto adiposo è la resistina, i cui livelli nel

sangue tendono ad aumentare in soggetti obesi, contribuendo insieme ad altri fattori, come il TNF- alfa, al meccanismo dell'insulino - resistenza (Muse et al., 2004; Stepan et al., 2001, Gayet et al., 2004; Yamka et al, 2006).

Tra gli ormoni prodotti dagli adipociti gioca un ruolo di primaria importanza la leptina, che attualmente è una delle sostanze maggiormente studiate in medicina umana e veterinaria. Essa è un ormone/citochina prodotta dagli adipociti che controlla lo stato di nutrizione ed ha funzione sia neuroendocrina che immunitaria. In qualità di ormone la leptina regola l'assunzione di cibo ed il metabolismo basale, sopprimendo l'appetito e stimolando il consumo energetico, ed i suoi livelli sierici, unitamente all'espressione genica negli adipociti, sono strettamente correlati alla percentuale di depositi di grasso corporeo. D'altra parte, la leptina è un'adipochina pro-infiammatoria che induce la differenziazione dei linfociti T helper 1 e può contribuire allo sviluppo e alla progressione delle risposte autoimmuni (Friedman, J. M & Halaas, J, 1998; Haddad J. et al., 2002).

Altri studi hanno dimostrato che l'obesità determina un aumento dello stress ossidativo; le conseguenze di un prolungato stress ossidativo sulle membrane cellulari è stato associato a neoplasie, diabete mellito, patologie del tratto urinario, disturbi cardiocircolatori, patologie epatiche, etc (Tanner et al, 2006; Sonta et al, 2004; Urakawa et al, 2003; Ha and Lee, 2000; Thamilselvan et al, 2000; Kesavulu et al, 2000; Freeman et al, 1999; Knight, 1999; Ames et al, 1993).

All'atto della valutazione clinico-nutrizionale di un soggetto la determinazione del peso corporeo non è affatto sufficiente, in quanto, su tale parametro può influire non solo l'accumulo di tessuto adiposo,

ma anche, più di rado, un aumento della massa di qualsiasi tipo di tessuto (es. ipertrofia muscolare negli animali sottoposti a lavoro) o di fluido come in corso di versamenti endocavitari (es. ascite) (Burkholder and Toll, 2000).

Dal punto di vista didattico si è soliti distinguere una condizione di sovrappeso dall'obesità, in funzione dell'aumento del peso ponderale; in particolare quando tale eccedenza oscilla tra il 10-20% del peso ideale, si parla di sovrappeso, mentre si considera obeso il soggetto con il 20 % di eccedenza. Tale approccio è comunque piuttosto riduttivo e, in campo umano, è ormai del tutto superato e sostituito dai cosiddetti *“indici di massa corporea”*. In medicina umana un individuo è considerato obeso quando la percentuale di grasso corporeo (%BF) supera del 20/30% il peso corporeo totale (Owen, 1988). In campo veterinario, invece, data la spiccata varietà morfologica tra le razze, nonché la rilevante presenza dei meticci, non si è ancora arrivati alla definizione di parametri oggettivi idonei a facilitare una diagnosi di obesità o sovrappeso. Studi sulla composizione corporea del cane indicano che questa specie si trova in una condizione corporea ideale quando presenta dal 15 al 20% di grasso sul totale della massa corporea (Stanton et al., 1992; Laflamme et al., 1994, 1995; Burkholder, 1994; Laflamme, 1997, 1997a).

Nel corso degli ultimi anni numerosi studi in campo veterinario hanno perseguito l'obiettivo di standardizzare un metodo strumentale che fosse capace di definire oggettivamente l'indice di massa corporea di un piccolo animale, utilizzando diverse metodologie quali: l'ecografia, i raggi X a doppia fonte di assorbimento energetico (DEXA), gli isotopi pesanti, le misurazioni morfometriche e l'impedenziometria bioelettrica (BIA).

Le misurazioni della circonferenza toracica e pelvica non consentono tuttavia, di determinare la massa grassa in maniera oggettiva, date le notevoli differenze morfologiche esistenti fra le varie razze; rappresentano però un buon metodo per stimare la perdita di peso in un determinato animale, sebbene richiedano una larga esperienza da parte dell'operatore che le esegue nonché la collaborazione del soggetto in esame (Burkhouder, 2001).

Gli ultrasuoni sono stati invece utilizzati per misurare lo spessore di grasso sottocutaneo nel cane (Anderson e Corbin, 1982; Morooka et al, 2001). Associare questa tecnica diagnostica con le altre può essere un buon metodo per localizzare i principali depositi adiposi e comprendere i meccanismi che spingono allo sviluppo dell'obesità (Morooka et al, 2001). Inoltre è una metodica relativamente semplice e soprattutto non invasiva, ciononostante il suo impiego sul campo risulta ancora ristretto, e limitato alla sola valutazione del grasso sottocutaneo della regione lombare (Morooka et al, 2001).

L'utilizzo della DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry) è, invece, un procedimento atto a differenziare la natura e la quantità di ciascun tessuto nelle varie parti dell'organismo soggette all'esame, e a monitorare lo sviluppo della composizione corporea del cane durante il periodo di dimagrimento. Per poter essere eseguito in maniera corretta quest'esame richiede che l'animale venga sottoposto ad anestesia. I risultati sono correlati alla massa minerale dell'osso, al tessuto adiposo ed alla massa magra dell'organismo (Munday et al., 1994).

La quantità d'acqua corporea totale, contenuta principalmente nel tessuto magro, può rappresentare un mezzo indiretto per la misurazione della massa grassa. La quota di acqua presente in un

organismo può essere stimata determinando la diluizione dell'ossido di deuterio (D<sub>2</sub>O) oppure di acqua arricchita con O<sub>18</sub>. La massa grassa e la sua percentuale possono essere calcolate sulla base della loro differenza. Il deuterio o l'O<sub>18</sub> sono due eccellenti traccianti non radioattivi e non tossici se somministrati a basse dosi. Questo metodo richiede il prelievo di un campione di sangue prima dell'iniezione sottocutanea del tracciante, e di un secondo campione 4 o 5 ore dopo. Può essere utilizzato nella pratica per stimare la percentuale di tessuto adiposo nei cani obesi. Questo metodo è stato attualmente validato nella specie canina (Pouteau et al., 1998; Son et al., 1998).

Nell'uomo la misurazione dell'impedenza bioelettrica è un metodo per studiare la composizione corporea in modo non invasivo, semplice, rapido e soprattutto riproducibile. La metodica è stata studiata nel cane (Elliot et al., 2002a, 2002b), sebbene siano necessari ulteriori studi per validare il metodo appieno.

Tra i metodi soggettivi in campo veterinario è di comune impiego il cosiddetto *Body Condition Score (BCS)*.

Il BCS corporeo è un metodo di valutazione soggettiva semiquantitativo che associa la valutazione di caratteristiche visibili alla palpazione di alcune regioni del corpo. Questa valutazione viene condotta secondo alcuni criteri, quali la localizzazione dei principali depositi adiposi, la visibilità o invisibilità di determinate strutture scheletriche ed il profilo dell'animale.

Il cane viene valutato in stazione quadrupedale, sia lateralmente che dall'alto utilizzando due scale di punteggio: quella da 0 a 5 che prevede l'utilizzo dei decimali, e quella da 1 a 9, senza decimali (Laflamme, 1993; Laflamme et al., 1994a).

L'obiettivo che si prefigge il presente studio è quello di approfondire i meccanismi patogenetici dell'obesità nel cane, attraverso la definizione del profilo endocrino-metabolico e pro-infiammatorio, unitamente alla valutazione clinica del grado di obesità, attraverso l'impiego di metodi fisici diretti e strumentali, quali l'ecografia e la radiografia transcutanea. I dati ottenuti sono stati altresì correlati ai rilievi clinici e strumentali attinenti l'apparato cardiovascolare, al fine di acclarare il ruolo che tale disturbo può avere sulla funzione cardiaca nei soggetti obesi.

I risultati delle presenti indagini saranno preceduti da una trattazione sulle più recenti acquisizioni eziologiche, patogenetiche, nonché clinico-diagnostiche, riguardanti l'obesità nella specie canina.

## **PARTE GENERALE**



### ***L'Obesità nel cane***

L'obesità è una condizione patologica caratterizzata dall'eccessivo accumulo di grasso che causa modificazioni di diverse funzioni organiche; il peso corporeo aumenta in maniera proporzionale all'accumulo di grasso. Va comunque precisato che l'aumento del peso corporeo potrebbe anche dipendere anche da cause di natura diversa, come ad esempio versamenti, edemi diffusi e gravidanza (Burkholder and Toll, 2000).

L'obesità è reputata una vera e propria patologia ed attualmente si annovera come la forma più comune di malnutrizione negli animali da compagnia nei paesi industrializzati. Come già detto, si può considerare una prevalenza media di cani obesi intorno al 20- 25% (Mason, 1970; Meyer et al., 1978; Edney e Smith, 1986; Armstrong e Lund, 1996; Robertson, 2003; Colliard et al., 2006; Mussa et al., 2006). Alcuni studi in Inghilterra e negli Stati Uniti indicano che la prevalenza dei cani in sovrappeso e obesi è stimata tra il 24% ed il

30%, mentre altre ricerche stimano che, in Europa, vi siano circa 4 milioni di cani sovrappeso, corrispondenti al 36% della popolazione analizzata, mentre il 57% dei cani presenta un peso ideale e solo il 7% risulta essere sottopeso. Nel nostro paese sembra che il 36% dei cani padronali è in una condizione di sovrappeso oppure è o di obesità; il 40% è di taglia media mentre il 33% appartiene alla taglia grande; a seguire, circa il 30% sono di piccola taglia, circa il 26% di taglia gigante e il 23% toy (Lund et al., 2006; Armstrong and Lund, 1996; Mason, 1970; Meyer et al 1978; Edney and Smith, 1986 (Ryan VH, et al., 2008).

Per comprendere meglio il concetto di obesità, è attualmente utilizzato il peso ottimale (ideale) di un animale, in quanto esso è sicuramente più semplice da misurare rispetto alla stima del grasso corporeo.

Nella **Tabella 1**. Sono illustrati i valori di riferimento della variazione di peso in base alla razza. (Diez e Nguyen, Obesità 2010).

**Valori di riferimento della variazione del peso**

**in relazione al sesso in diverse razze**

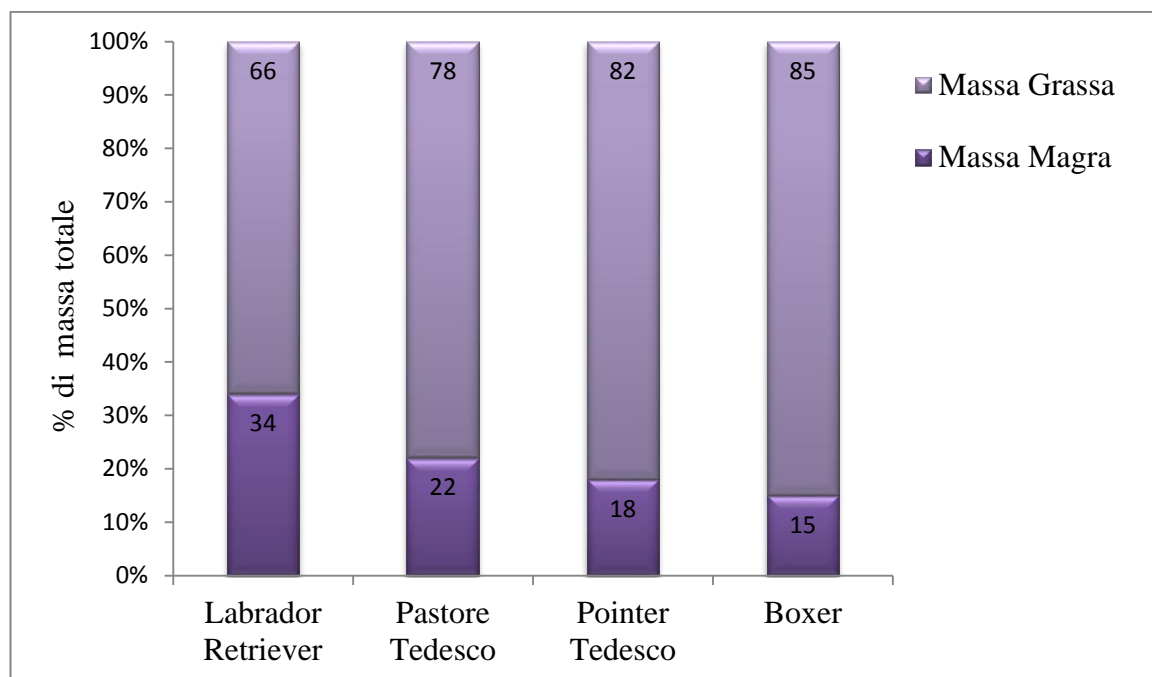
<b>Razza</b>	<b>Peso medio del maschio (Kg)</b>	<b>Peso medio della femmina (Kg)</b>
<b>Chihuahua</b>	2.0 ± 0.6	1.5 ± 0.4
<b>Yorkshire</b>	2.6 ± 0.5	2.3 ± 0.5
<b>Shi Tzu</b>	5.8 ± 1.3	5.0 ± 0.8
<b>Cavalier King Charles</b>	8.7 ± 1.5	7.0 ± 1.1
<b>Bassotto</b>	9.2 ± 1.2	7.5 ± 1.8
<b>Boule Dogue</b>	13.0 ± 1.6	11.3 ± 1.9
<b>Cocker Spaniel</b>	13.0 ± 2.3	11.8 ± 1.0
<b>Whippet</b>	13.9 ± 1.1	11.7 ± 0.7
<b>Bull Dog Inglese</b>	26.0 ± 4.3	22.4 ± 3.6
<b>Siberian Husky</b>	24.0 ± 0.9	18.5 ± 1.0
<b>Weimaraner</b>	33.6 ± 3.7	30.5 ± 4.3
<b>Golden Retriever</b>	33.7 ± 3.4	30.4 ± 3.6
<b>Boxer</b>	33.9 ± 3.5	28.8 ± 2.4
<b>Labrador Retriever</b>	35.5 ± 4.5	30.7 ± 3.4
<b>Pastore Tedesco</b>	35.9 ± 3.6	28.4 ± 2.7
<b>Dobermann</b>	39.0 ± 3.5	28.5 ± 5.0
<b>Rottweiler</b>	46.8 ± 4.8	39.7 ± 4.9
<b>Terranova</b>	63.5 ± 6.2	51.1 ± 8.6
<b>Alano</b>	70.5 ± 8.2	56.6 ± 7.1

**Tab.1.** Valori di riferimento della variazione di peso in base alla razza. (Diez e Nguyen, Obesità 2010).

In umana un individuo è considerato moderatamente obeso qualora il suo peso corporeo superi il peso ideale del 15-30% (Owen 1988). Una simile stima è stata proposta anche per i cani, stima per la quale la condizione di sovrappeso si realizza nel caso in cui il peso corporeo supera quello ideale del 10- 20%; un cane viene invece definito obeso nel caso in cui superi del 20% il suo peso ottimale (Joshua 1970; Lewis et al., 1987).

Anche la massa grassa, espressa come percentuale del peso corporeo, può essere utilizzata per definire l'obesità. In medicina veterinaria studi sulla composizione corporea nel cane indicano che uno stato di nutrizione ideale si manifesta quando la percentuale di tessuto adiposo è del 15- 20% (Stanton et al., 1992; Laflamme et al., 1994, 1995; Burkholder, 1994; Laflamme, 1997, 1997a).

Nella **Figura 1** sono espresse le percentuali di massa grassa e massa magra in alcune razze canine di grossa taglia (Diez e Nguyen Obesità, 2010).



**Fig 1.** Distribuzione della massa magra e della massa grassa in razze canine di grossa taglia. (Diez M., Nguien P., 2004)

Da un punto di vista eziopatogenetico si riconoscono numerosi fattori di rischio in grado di causare uno squilibrio tra la quantità di energia assunta attraverso la dieta e quella utilizzata da ogni singolo soggetto per far fronte ai propri fabbisogni energetici. In particolare sono stati definiti i seguenti fattori di rischio: genetica, razza, età, sesso, sterilizzazione, trattamenti contraccettivi, malattie endocrine, trattamenti farmacologici, infezioni, stile di vita, tipo di dieta e non ultimi, aspetti sociali.

Nella pratica, tuttavia, i due principali fattori di rischio sono rappresentati dalla genetica e dall'ambiente in cui vive l'animale. Infatti, sebbene i fattori di rischio genetici possono favorire un bilancio energetico positivo, la comparsa dell'obesità è soprattutto legata all'ambiente ovvero allo stile di vita, al tipo di alimentazione, all'incidenza delle sterilizzazioni etc.

### ***Fattori genetici - Razza***

In umana, la caratteristica dell'ereditabilità relativa all' obesità, è stata definitivamente acclarata come fattore capace di influire sull'attività dei diversi regolatori metabolici e dei loro recettori e, quindi, sull'efficienza metabolica (Borgadus et al., 1986; Campfield et al., 1995; Halaas et al., 1995; Pelleymounter et al., 1995). In medicina veterinaria la razza è senz'altro uno dei principali fattori appartenente a questa categoria e, tale aspetto rappresenta un importante fattore di rischio per l'obesità, sebbene l'elenco delle razze maggiormente predisposte appaia particolarmente variabile nei diversi lavori epidemiologici presenti in letteratura. Ciò probabilmente è da ascrivere alla diversa distribuzione delle singole razze nei Paesi in cui tali ricerche sono state condotte.

Nella **Tabella 2** sono riportate le razze in cui è più frequente osservare una condizione di obesità. (Edney & Smith, 1986).

<b>Razze predisposte</b>	<b>Razze meno predisposte</b>
Labrador Retriever	Dobermann
Basset Hound	Yorkshire Terrier
Beagle	Alano
Bassotto	Pastore tedesco
Cocker Spaniel	Levriero
Rottweiler	Pechinese

**Tab 2.** Frequenza dell'obesità nelle razze canine. (Edney & Smith, 1986).

I Labrador, Cairn Terrier, Cocker spaniel, Shetland, Bassotto Tedesco e a pelo lungo, Cavalier King Charles Spaniel e Beagle sono maggiormente colpiti nel Regno Unito, mentre in Germania le razze con la più alta incidenza di obesità sono risultati essere i Boxer, Cocker spaniel, Bassotti, Barboncini e Spitz (Edney & Smith, 1986; Meyer et al., 1978). In realtà una maggiore predisposizione all'obesità si traccia in funzione del rapporto massa grassa/massa magra che determina, in sostanza, i fabbisogni di mantenimento. Così i Labrador, una delle razze considerate oggi a maggior rischio di obesità, ha un rapporto massa grassa/massa magra di 34/66, rapporto che scende a 15/85 nel Boxer. Tra le razze a minor rischio obesità figurano, contrariamente, il Doberman, il Pastore Tedesco lo Yorkshire Terrier, i Levrieri, il Pechinese. Anche i cani ottenuti da incroci sembrano essere tendenzialmente meno predisposti all'obesità (Schalling et al., 1999).

### ***Età***

L'obesità tende ad essere direttamente proporzionale all'avanzare dell'età a causa della riduzione del metabolismo basale, con una media intorno ai 5-8 anni (Robertson, 2003); è inoltre è direttamente correlata all'età del proprietario (Edney e Smith, 1986). Meno del 20% dei cani di 4 anni di vita o più giovani risulta obeso, mentre la percentuale sale ad oltre il 50% nella categoria dei soggetti tra i 7 e gli 8 anni ed arriva quasi al 70% nelle popolazioni di età uguale o superiore a 9 anni (Glickman et al., 1995; Meyer et al., 1978). Nei

cani anziani, di contro, secondo quanto affermato in un altro studio, si è notato che la frequenza dell'obesità si abbassa nei soggetti di età avanzata, con più di 12 anni di vita; ciò è probabilmente da ascrivere alla riduzione del metabolismo basale, tipico dell'età senile (Amstrong e Lung, 1996). In base a queste osservazioni sono state elaborate due teorie sulla relazione tra obesità e invecchiamento. La prima teoria è basata sull'ipotesi che l'invecchiamento provochi una variazione dei meccanismi digestivi, per cui se non si effettua una puntuale ridefinizione della dieta, (sia in termini di tipologia di alimento che di razione giornaliera), l'animale va incontro ad una variazione della condizione corporea; la seconda teoria, invece, riconosce come principale causa della maggiore incidenza dell'obesità nei soggetti anziani, le modifiche del metabolismo correlate alla differente produzione ormonale.

### ***Sesso***

Diversi studi hanno evidenziato una maggiore incidenza, (circa il 60%), nelle femmine intere rispetto ai maschi interi, in funzione della differente quantità di massa magra presente e delle differenze di ordine ormonale (Jerico e Scheffer, 2002). Va tenuto in considerazione che le femmine, a parità di peso, consumano mediamente il 15 % di energia in meno rispetto ai maschi per unità di peso metabolico ideale, e che la loro massa magra è di solito inferiore rispetto a quella dei soggetti maschi (Jeusette et al., 2004).



### *Sterilizzazione*

Rappresenta uno dei fattori di rischio più comune nel cane (Edney & Smith, 1986; Fettman et al, 1997; Jeusette et al, 2004; McGreevy et al. 2005). La diffusione della sterilizzazione nella popolazione canina può spiegare l'aumento della frequenza dell'obesità registrata negli ultimi anni, rispetto a quella osservata nei primi studi epidemiologici pubblicati negli anni '60. La gonadectomia aumenta la frequenza dell'obesità sia nelle femmine che nei maschi, con un'incidenza quasi raddoppiata (Edney e Smith, 1986; Robertson, 2003). Ciò è dovuto ad una diminuzione dei fabbisogni basali causata dalla mancata produzione degli ormoni sessuali sia maschili che femminili. Gli ormoni sessuali, infatti, hanno un forte impatto sul peso corporeo, sia diretto, a livello del sistema nervoso centrale, sia indiretto, modificando il metabolismo cellulare.

Inoltre nei maschi si riscontra una significativa riduzione dell'attività fisica spontanea, da ascrivere alla mancanza di stimoli esterni; mentre nelle femmine sembra sia da chiamare in causa, principalmente, la mancata azione inibitoria sull'assunzione volontaria di alimento, data in primis dagli estrogeni, così come avviene durante il normale ciclo sessuale in cui l'appetito è minimo durante l'estro, massimo nell'anaestro (Haupt et al., 1979).

In questo contesto va inoltre ricordato sicuramente che l'uso di contraccettivi può causare un incremento ponderale pari al 17,4 % nelle cagne trattate con medrossi progesterone cloridrato (Harel et al. 1996).

Nella **Tabella 3** vengono illustrati gli effetti del sesso e della sterilizzazione sulla frequenza di obesità. (Diez e Nguyen. Obesità 2010).

<b>Tab. 3 . Effetti del sesso e della sterilizzazione sulla frequenza dell'obesità (%)</b>						
<b>Bibliografia</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>
<b>Krook et al, 1960</b>			38 %			62 %
<b>Mason, 1970</b>			23 %			32 %
<b>Meyer et al., 1978</b>			42 %			58 %
<b>Modificato secondo Edney &amp; Smith 1986 (1)</b>	17 %	38 %		22 %	45 %	
<b>Jerico &amp; Sheffer 2002 (2)</b>	5 %			63 %		
<b>Robertson, 2003 (3)</b>			26 %			25 %

Legenda: A= Maschi interi; B= Maschi castrati; C= Maschi totali; D= Femmine intere; E= Femmine sterilizzate; F= Femmine totali

(1) *Le percentuali del campione sono:*

- *Maschi interi: 46 % Maschi sterilizzati: 4%*
- *Femmine intere: 29% Femmine sterilizzate 17%*
- *Cani con status sessuale non identificato: 4%*

(2) *La percentuale di maschi e femmine sterilizzati è del 33 %*

(3) *Frequenza dell'obesità in animali sterilizzati (maschi e femmine insieme) 31,8% contro 14,8% negli animali interi*

### ***Obesità e infezioni virali***

Alcuni agenti patogeni, in particolare virus, sono stati descritti come causa di obesità nell'uomo e negli animali, sebbene molti di questi hanno mostrato tale capacità solo negli animali da laboratorio (Atkinson, 2007).

#### **✓ *Virus Canino Cimurro (CDV)***

Questo paramyxovirus (correlato al virus del morbillo umano) è noto come causa di gravi problemi di salute dei cani e dei diversi mammiferi carnivori, comprese patologie del tratto respiratorio, gastrointestinale e del sistema nervoso centrale. Il virus replica nei neuroni e nelle cellule gliali della sostanza bianca del cervello. Il CDV, una volta inoculato nel topo, è stato visto capace di indurre obesità, provocando ipertrofia degli adipociti e conseguente aumento di peso (Pasarica M. et al., 2007). Il CDV induce cambiamenti nella morfologia del cervello, ed alcuni ricercatori hanno ritrovato mRNA virale a livello di ippocampo, mesencefalo e ipotalamo di topi infetti (Dhurandhar NV., 2001; Dhurandhar NV., 2004; Bernard A. et al., 1993). L'ipotalamo svolge un importante ruolo nella regolazione dell'appetito, nel consumo di energia oltre a funzioni neuroendocrine (Bernard A. et al., 1999). Un cambiamento è dato, per esempio, dalla diminuzione del numero dei recettori per la leptina nell'area

ipotalamica del cervello e un aumento di quelli della corteccia e nell'ippocampo (Bernard A. et al., 1999). È ipotizzabile che animali che hanno superato una condizione cimiterosa potrebbero essere maggiormente predisposti nei confronti dell'obesità, ipotesi comunque da confermare in campo clinico.

### ***Obesità e Malattie endocrine***

L'obesità può essere associata a certe patologie endocrine quali il diabete mellito, l'ipotiroidismo e l'iperadrenocorticismo (Krook et al., 1960; Dixon et al., 1999; Hoenig, 2002). Circa il 40% delle cagne colpite da queste affezioni endocrine presentano una condizione di obesità, anche se è difficile stabilire quale patologia sia primaria. In questi casi l'obesità è causata da alterazioni dell'omeostasi energetica regolata da un vasto corredo ormonale. Va comunque precisato che l'obesità, comunemente associato nell'uomo ad ipotiroidismo, risulta relativamente infrequente nei cani ipotiroidei, con una percentuale intorno al 25% dei soggetti affetti (Panciera, 1994). Uno studio ha valutato la funzionalità tiroidea nei cani obesi nel corso di un programma di dimagrimento, rispetto ad un gruppo di animali sani, mettendo in evidenza che le concentrazioni di alcuni ormoni tiroidei risultano più elevate nei cani obesi e tendono a ridursi con il progressivo dimagrimento (Daminet et al. 2003).

### ***Diabete mellito***

Correlazioni fra l'obesità ed il metabolismo del glucosio sono alquanto complesse, ma è chiaro che il sovrappeso induce profonde modificazioni del metabolismo glucidico e influenza, in particolare, la secrezione di insulina (Mattheeuws et al. 1984). È stato dimostrato che la secrezione di insulina, i tassi di insulinemia e l'intolleranza al glucosio, aumentano proporzionalmente al grado di obesità e che queste modificazioni sono causate da uno stato di insulino - resistenza, che riconosce fra i propri elementi costitutivi l'infiammazione cronica (Festa et al., 2001). L'obesità non è ancora stata definitivamente riconosciuta come fattore di rischio per lo sviluppo del diabete mellito nel cane; ciononostante, l'attuale aumento dell'incidenza potrebbe comportare tale ipotesi. In particolare la produzione di ormoni, come leptina e adiponectina da parte degli adipociti viscerali, oltre a giocare un ruolo primario nel determinismo del senso di fame e di sazietà, rivestirebbe un'importanza ragguardevole nella comparsa di insulino - resistenza nei cani obesi (Hoening, 2002) .

Negli esseri umani, la più importante patologia associata all'obesità è la sindrome metabolica, un gruppo di disordini metabolici e vascolari, che aumentano il rischio di sviluppare diabete di tipo 2 e patologie cardiovascolari (Reisin E. et al., 2005). Sebbene i cani soffrano più frequentemente di una forma di diabete simile a diabete di tipo 1 (insulino dipendente) (Fall T, et al., 2007). Uno studio ha riscontrato comunque un' associazione tra diabete canino ed obesità, ma la ragione di tale associazione è ancora poco chiara, forse correlata al fenomeno dell' insulino - resistenza (Lund EM. et al., 2000; Hoenig M., 2002; Catchpole B. et al., 2005).

### ***I perlipidemia e dislipidemia***

In maniera molto simile all'uomo, i cani obesi presentano un rischio maggiore di dislipidemia, con un aumento dei tassi plasmatici di colesterolo e trigliceridi, (Yamka et al., 2006; Yamka and Friesen, 2006; Jeusette et al., 2004, 2005; Sunvold and Bouchard, 1998), che tendono a ridursi in seguito alla perdita di peso (Diez et al., 2004).

In questi soggetti, inoltre, è stata osservata un'infiltrazione adiposa del fegato (Joshua, 1970), e un ulteriore studio epidemiologico ha denotato un aumento del rischio di pancreatite emorragica acuta (Hess et al, 1999).

Va comunque precisato che i tassi plasmatici di colesterolo, trigliceridi e fosfolipidi, tendano, in cani obesi, ad essere più alti, ma non superiori ai valori di riferimento. È stato anche osservato un aumento del contenuto di acidi grassi non esterificati e alcune modificazioni delle lipoproteine, vale a dire un aumento di trigliceridi nelle VLDL e nelle HDL, una riduzione del colesterolo HDL ed aumento del colesterolo VLDL, le cui conseguenze sono ben note soprattutto nell'uomo (Chikamune et al., 1995; Bailhache et al., 2003; Diez et al., 2004).

### ***Sedentarietà e mancanza di esercizio***

La mancanza di esercizio fisico regolare è innegabilmente uno dei principali fattori predisponenti l'obesità, e la prevalenza di questa patologia si riduce proporzionalmente alla durata dell'attività fisica quotidiana, che aumenta in maniera positiva il dispendio energetico.

In linea generale ci sono più animali obesi fra i cani che vivono in appartamento rispetto a quelli che vivono all'aperto (31% contro 23%) (Robertson, 2003).

### ***Alimentazione***

Fondamentale, nel determinismo dell'obesità è la somministrazione di quantità eccessivamente elevate di alimenti con alta densità energetica, apporto nutritivo che non tiene conto dei fabbisogni energetici del soggetto, in funzione sia del sesso che dell'età. Troppo spesso i cani domestici vengono alimentati "*ad libitum*", senza che essi possano essere in grado di regolare il consumo giornaliero di alimento, con avanzi di cucina o con bocconcini e snack di ogni tipo al di fuori della razione giornaliera. In letteratura sono presenti diversi lavori che non concordano sull'influenza delle diete fatte in casa con lo sviluppo dell'obesità nel cane: l'idea di base è che gli animali che ricevono questo tipo di razioni, nella maggior parte dei casi, vengano compensati con bocconcini extra o alimentati con quantità eccessive rispetto ai fabbisogni (Lewis, 1978). Bisogna tuttavia considerare che negli Stati Uniti, dove il 95% dei cani è alimentato con mangimi commerciali, l'incidenza dell'obesità è simile, se non più elevata, a quella dei Paesi europei (Robertson, 2003). Uno studio epidemiologico, non ha evidenziato alcuna particolare influenza del tipo di mangime (umido o secco) sulla frequenza dell'obesità, e, contrariamente a quanto si crede, la suddivisione della razione giornaliera in tanti piccoli pasti non predispone all'obesità (Robertson, 2003). A causa dell'erroneo riconoscimento di un ruolo sociale

nell'alimentazione, spesso il proprietario utilizza la somministrazione dei pasti come uno strumento di relazione d'elezione, favorendo così lo sviluppo della patologia. La prevalenza del sovrappeso è maggiore nei cani appartenenti a proprietari a loro volta in sovrappeso (54% rispetto a 28%) o anziani (36% rispetto a 20%) (Mason, 1970; Kronfeld, 1988). La ragione di tali differenze è da ricondurre al fatto che il livello di attività fisica del proprietario può influenzare significativamente quello del cane.

### ***Patologie associate all'obesità***

Negli animali da compagnia l'obesità, così come nell'uomo, è correlata alle più svariate patologie, quali disordini ortopedici, endocrinopatie, iperlipidemia, patologie cardiorespiratorie, ipertensione, neoplasie, disordini dell'apparato tegumentario, riproduttivo e del tratto urinario.

Sembra, inoltre, che vi sia un legame molto stretto tra obesità e riduzione dell'aspettativa di vita del soggetto (Kealy et al., 2002). In medicina umana si ritiene che le adipocitochine possano giocare un ruolo primario nella patogenesi di molti dei disordini clinici associati all'obesità, ed è probabile che esistano parallelismi anche in medicina veterinaria. Pertanto, le conseguenze cliniche dell'obesità sembrano avere un duplice meccanismo eziopatogenetico: da un lato un sovraccarico dei diversi apparati e dall'altro una condizione infiammatoria cronica che condurrebbe alla degenerazione tissutale. La deposizione di grasso in eccesso può, inoltre, avere effetti meccanico/fisici che aggravano le malattie ortopediche, così come la



costrizione delle vie aeree superiori, e riducono per di più la dissipazione del calore. In secondo luogo, la perturbazione della normale funzione endocrina può innescare o esacerbare una condizione patologica presente, rapporto questo di causalità da tener presente.

È stato inoltre ben documentato che gli ormoni ed i mediatori chimici prodotti dal tessuto adiposo bianco (WAT) giocano un ruolo determinante nei meccanismi dell'infiammazione (Plomgaard et al., 2005). L'obesità è di fatto caratterizzata da una lieve infiammazione sistemica cronica, con aumento delle concentrazioni di marker infiammatori come, IL-6 e TNF- alfa (Trayhurn e Wood, 2004). Nell'uomo la concentrazione di IL-1b si riscontra in maggior quantità nei soggetti obesi che, insieme a livelli elevati di IL-6, accresce il rischio sia di diabete tipo II, sia della sindrome metabolica (Um et al., 2004; Spranger et al., 2003).

L'obesità predispone i cani di tutte le età alle patologie osteoarticolari, in quanto il peso in eccesso grava sulle articolazioni, con conseguenti problemi ortopedici, come ad esempio lacerazioni dei legamenti crociati, e fratture del condilo omerale (Kealy et al., 1992; Janicki e Sendecka, 1991). Anche patologie come la displasia dell'anca riconoscono nell'obesità un fattore scatenante, in quanto il sovraccarico esercitato dal peso in eccesso facilita la comparsa della sintomatologia e rende più rapida l'evoluzione della patologia.

Molto critico è l'eccessivo consumo di alimenti nei cuccioli delle razze di taglia grande e/o gigante che è causa di numerosi problemi ortopedici, i cui segni clinici si osservano solo dopo il sesto mese di vita dell'animale, momento in cui le condizioni determinate sono spesso irreversibili.

I cani che soffrono di malattie osteoarticolari restano “intrappolati” in un circolo vizioso, poiché, istintivamente tendono a ridurre l’attività fisica volontaria, con conseguente riduzione del consumo energetico; da ciò ne consegue che se non si provvede a correggere la razione giornaliera, i soggetti si ritrovano in condizioni di bilancio energetico positivo. Inoltre, l’osservazione di una patologia articolare è certamente uno dei principali elementi che indicano la necessità di ridurre il peso corporeo del cane, ma può anche frustrare questo stesso processo, rendendo inattuabile l’esercizio fisico.

La maggior parte del rischio per patologie ortopediche, come ad esempio l’osteoartrite (OA), può essere spiegato con l’effetto di “sovraccarico meccanico” provocato dall’obesità. In aggiunta, altri meccanismi patogenetici, probabilmente di natura metabolica, possono contribuire al legame tra OA e obesità; difatti il grasso corporeo produce diversi mediatori dell’infiammazione, che possono contribuire o essere causa concomitante dell’osteoartrite (Trayhurn and Wood, 2004; Sowers et al., 2002). A questo proposito, è stata evidenziata la produzione da parte delle strutture articolari coinvolte dall’infiammazione di sostanze che fisiologicamente vengono secrete dal tessuto adiposo bianco come la leptina e l’adiponectina, rilevati nel liquido sinoviale; in particolare l’espressione della leptina viene regolata dagli osteofiti e dalla cartilagine dei pazienti con OA (Dumond et al., 2003). La leptina inoltre tende ad incrementare gli effetti delle citochine pro-infiammatorie sui condrociti (Otero et al., 2003), con aggravamento della condizione infiammatoria. In aggiunta, un recente studio ha dimostrato che la sinovia, il cuscinetto adiposo infra-patellare e gli osteofiti, sono le principali fonti di adipochine

presenti nel liquido sinoviale, il che suggerisce in aggiunta la produzione locale di tali ormoni.

### ***Intolleranza da sforzo e malattie cardiorespiratorie***

L'apparato respiratorio e quello cardio-circolatorio soffrono maggiormente degli effetti negativi procurati dall'obesità; non a caso le manifestazioni cliniche più frequenti in soggetti obesi sono legati a patologie cardiorespiratorie (Ettinger, 1983), che si esprimono con intolleranza allo sforzo e rapido affaticamento (De Rick e De Schepper, 1980).

Nell'uomo l'obesità è associata ad apnea ostruttiva durante il sonno e all'asma, compromissioni queste della funzione respiratoria, causate dal tessuto adiposo sia sulla parete toracica che sul diaframma (Kopelman, 2000). Essendo il tessuto adiposo viscerale quindi metabolicamente più attivo rispetto a quello sottocutaneo, si potrebbe ipotizzare che possano essere coinvolti anche alcuni fattori endocrini; negli asmatici obesi, infatti, si osserva un aumento dei tassi plasmatici di IL-6, che può modulare i linfociti T-helper 2 (Th2) (quindi l'immunità cellulare), oppure il TNF- alfa, che può aumentare l'infiammazione e la contrattilità bronchiolare (Chung e Barnes, 1999; Heijink et al., 2002; Thomas, 2001; Sukkar et al., 2001). Infine anche la leptina può facilitare l'iper-reattività della muscolatura liscia delle vie aeree (Shore, 2007).

Infine si rammenti che i cani obesi, sono anche maggiormente predisposti al colpo di calore durante i periodi estivi (Flournoy et al., 2003).

### ***Incontinenza e calcoli urinari***

È stata formulata l'ipotesi che esista una correlazione fra l'obesità ed alcune forme di incontinenza urinaria e di problemi riproduttivi. La questione resta però sempre controversa, seppure sembri accettabile l'assunto che l'accumulo di grasso a livello retro-peritoneale possa esercitare effetti meccanici sull'apparato urinario. I cani in sovrappeso hanno anche probabilità più elevate di sviluppare calcoli di ossalato di calcio (Lekcharoensuk et al., 2000).

### ***Problemi riproduttivi***

Non è completamente chiaro il ruolo che svolga il tessuto adiposo sulla funzione riproduttiva nel cane, ma è stato dimostrato che il suo eccesso può facilitare la comparsa di distocia (Edney e Smith, 1986; Glickman et al, 1995).

### ***Neoplasie e stress ossidativo***

Recenti studi sul topo e sull'uomo hanno messo in relazione l'obesità con l'aumento della produzione all'interno del tessuto adiposo bianco, di diversi prodotti reattivi dell'ossigeno, portando a stress ossidativo e elevata produzione di citochine pro infiammatorie (Furukawa et al., 2004). Lo stress ossidativo comporta un danno a livello di DNA con successive alterazioni nell'espressione genica sui segnali cellulari, e

può inoltre indurre mutazioni, trasformazione e morte cellulare. Questi effetti da “danno ossidativo” possono predisporre l’organismo a numerose patologie, prima tra tutte il cancro (Cline M.T. et al., 2009).

### ***Malattie dermatologiche***

Numerosi lavori che trattano l’obesità del cane citano spesso una maggiore presenza proprio nei soggetti obesi, di affezioni dermatologiche concomitanti, sebbene la correlazione tra le due patologie sia poco chiara (Edney e Smith, 1986). In un’indagine clinica eseguita su 29 cani colpiti da dermatite da Malassezia Pachidermatis, l’obesità è stata identificata come un significativo fattore di rischio per lo sviluppo di questa patologia (Pak- Son et al., 1999).

### ***Difficoltà anestetiche e chirurgiche***

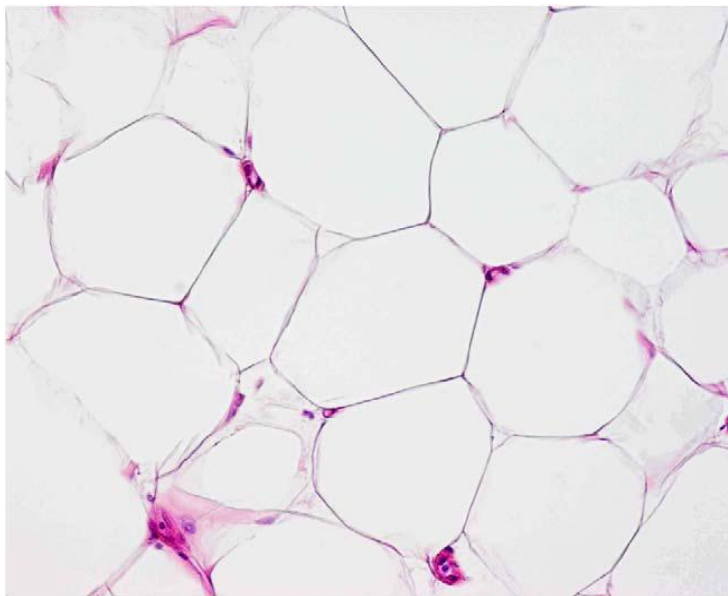
Nei soggetti obesi è maggiore il sanguinamento durante un intervento chirurgico, inoltre i rischi legati all’anestesia generale sono più elevati, quali soprattutto il sovradosaggio, nonché il prolungamento del periodo di risveglio per accumulo degli anestetici liposolubili nel grasso corporeo (Clutton, 1988). Il rischio intraoperatorio nei cani risulta aumentato a causa di complicanze dovute a riduzione della capacità respiratoria, ipoventilazione, aumento della pressione sistemica, o anche ad anomalie dovute ad altre manovre e/o funzioni, come la difficoltà di inserimento di sonde, il mantenimento dell’equilibrio idrico, etc. Anche le complicazioni post-operatorie

sono più comuni nei pazienti sovrappeso e/o obesi (Fisher et al., 1995).

### ***Fisiopatologia dell'obesità***

Il tessuto adiposo nei mammiferi è composto da due tipologie cellulari: adipocita bianco e bruno. Queste cellule hanno una distinta anatomia e funzione: gli adipociti bianchi sono uniloculari (Fig. 2), consentono l'accumulo di acidi grassi dopo il pasto e sono deputati alla distribuzione di energia (sotto forma di acidi grassi) per l'organismo. Il tessuto adiposo bianco controlla la massa corporea, tramite la secrezione dell'ormone leptina e regola il comportamento individuale per la ricerca e l'assunzione di cibo; gli adipociti bruni sono invece multiloculari e ricchi di grandi mitocondri contenenti la proteina UCP1 (univocamente espressa in queste cellule) responsabile del disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa che a sua volta è deputato alla produzione di calore, e quindi alla termogenesi. La quantità relativa dei due tessuti è responsabile del colore, il quale a sua volta dipende da diversi fattori: età, specie, razza e condizioni ambientali e nutrizionali (Y.Y. Zhang et al., 1994). Quando il bilancio energetico è positivo, il tessuto adiposo subisce un incremento prevalente nella sua componente bianca. Gli adipociti bianchi diventano ipertrofici e successivamente (probabilmente a causa di uno stretto rapporto di causalità), iperplastici. Infatti, si crede che questo tipo di adipociti non siano in grado di andare oltre ad un volume massimo prestabilito, che è geneticamente determinato e specifico per ogni regione di deposito dell'organismo (M. Di Girolamo, 1998). Gli

adipociti che hanno raggiunto la dimensione massima consentita, successivamente vanno incontro ad un aumento del numero di cellule, ovvero iperplasia. In recenti studi si è visto che non soltanto i fattori paracrini, ma anche fattori circolanti e neurali possono giocare un ruolo importante nella regolazione dello sviluppo e nella successiva crescita del tessuto adiposo (D. Lemonnier, 1972; B. Bjorntorp, 1991, D.B. Hausman et al., 2001). Essi suggeriscono che nello sviluppo dell'obesità le cellule adipose ipertrofiche producono e rilasciano fattori paracrini proliferativi i quali hanno la funzione di regolare la proliferazione dei pre- adipociti, e che, la loro risposta proliferativa, sia modulata da stimoli nervosi che agiscono sui depositi adiposi e sui fattori sierici circolanti.



**Fig. 2** Microscopia ottica.

Ematossilina-eosina.

Tessuto adiposo bianco umano.

Obiettivo di ingrandimento 20 x (Cinti S.,2005).

La presenza del recettore della leptina sembra essenziale per indurre l'iperplasia del tessuto adiposo (P.R. Johnson et al., 1972).

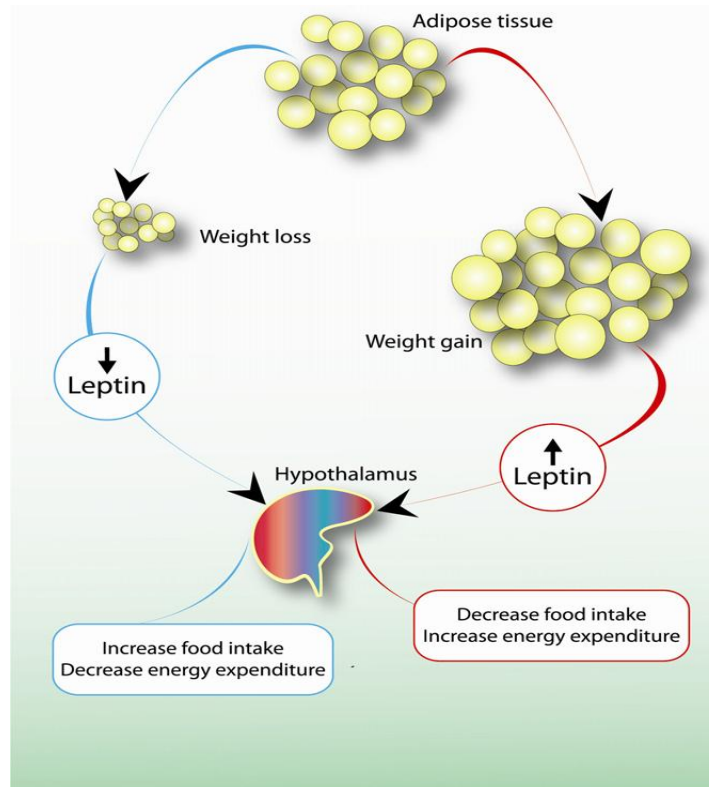
Il tessuto adiposo bianco (WAT) notevolmente vascolarizzato e innervato, è composto principalmente da cellule altamente specializzate conosciute come adipociti, ma contiene anche macrofagi ed altre tipi di cellule, le quali interagiscono con lo stroma ed il compartimento vascolare. Il tessuto adiposo bianco è il sito principale per l'immagazzinamento di energia in eccesso sotto forma di trigliceridi nei mammiferi e negli uccelli (Frühbeck et al., 2001). Questo tessuto funge da organo bersaglio per diversi ormoni e stimola la produzione da parte degli organi endocrini di adipochine, sostanze polipeptidiche che agiscono su diversi tessuti (muscoli, fegato e ipotalamo), per la normale regolazione fisiologica e metabolica (Guerre-Millo, 2006). Durante l'obesità, alcune adipochine, come la leptina, il TNF- alfa, l'interleuchina (IL -6), sono prodotti in eccesso, mentre si assiste ad una diminuzione dei livelli plasmatici di adiponectina (Bastard et al., 2006). Negli esseri umani, questa condizione favorisce un lieve stato infiammatorio del tessuto adiposo che può quindi contribuire alla patogenesi della sindrome metabolica, un insieme di anomalie metaboliche caratterizzate da obesità, dislipidemia, diabete mellito di tipo 2 e correlata insulino-resistenza, ipertensione, e complicanze cardiovascolari (Bastard et al., 2006).

Sia la leptina che l' adiponectina hanno mostrato essere affidabili indicatori di adiposità sia nell'uomo (Matsubara et al., 2002) che in altri animali come i cavalli (Kearns et al., 2006). Inoltre, sia alti livelli di leptina che bassi livelli di adiponectina sono stati associati alla



sindrome metabolica nell'uomo (Rabe et al, 2008; Ryo et al, 2004; Matsuzawa, 2006).

La leptina è un'ormone che regola l'assunzione di cibo e il dispendio energetico. La parola deriva da leptina (dal greco λεπτός= magro, sottile). È una proteina composta da 167 aminoacidi con un peso molecolare di 16 kDa. Anche se è sintetizzata principalmente dal tessuto adiposo ma può anche essere prodotta da altri organi. Negli esseri umani e nei topi la secrezione di leptina è stata isolata dallo stomaco, dalla placenta, e dalla mammella, mentre nei cani, l'RNA della leptina è stato rilevato solo nel tessuto adiposo bianco, sebbene manchino studi su altri tessuti per determinarne l'eventuale espressione genetica (Iwase et al., 2000a). La sequenza di DNA codificante per la leptina è stato prima identificato come gene *ob* (obeso) nei topi, e si è visto che mutazioni nella sua sequenza genica portano ad una mancata sintesi proteica, con conseguente polifagia, riduzione delle riserve energetiche e obesità patologica (Zhang et al., 1994). Viceversa, la somministrazione esogena di leptina in topi obesi comporta la riduzione dell'appetito e la perdita di peso (Halaas et al., 1995). La leptina circolante viene prodotta in proporzione al grasso di deposito ed è necessaria per comunicare al sistema nervoso centrale (SNC) l'eccessiva riserva energetica presente nell'organismo, al fine di sopprimere l'assunzione di cibo e consentire il consumo energetico (**Fig. 2**). Questa proteina, prodotta dal tessuto adiposo, viene liberata nel torrente circolatorio regolando i processi omeostatici che consentono agli animali di mantenere pressoché costante il peso corporeo, con variazioni massime dell'ordine del 5% (Kander et al., 2003).



**Fig. 2 .** Biologia della Leptina (Kander et al., 2003).

In aggiunta agli effetti metabolici la leptina ha la capacità di influire fortemente su diversi assi endocrini; in umana è stato dimostrato che concentrazioni diminuite di leptina in risposta alla privazione di cibo, sono responsabili della sospensione indotta del senso di fame, provocando la soppressione dell'asse ipotalamo- ipofisi- gonadi (Veniant MM. et al., 2003). Sembra inoltre che la leptina possa agire come mediatore tra tessuto adiposo, il centro ipotalamico regolatore dell'omeostasi energetica e il sistema riproduttivo, indicando la presenza di riserve energetiche adeguate per una corretta funzione riproduttiva (Chehab FF. et al., 2002). Quest'azione può essere, almeno in parte, spiegata dall'effetto di soppressione della leptina

sulla produzione e secrezione del neuropeptide Y (NPY) da parte dei neuroni del nucleo arcuato (Magni P. et al., 2003). Il NPY è un forte stimolatore dell'appetito (Sainsbury A. et al., 2002) ed è anche coinvolto nella regolazione di diversi ormoni ipofisari: è in grado infatti di sopprimere l'ormone della crescita (GH) mediante la stimolazione della somatostatina, di diminuire la secrezione delle gonadotropine e ancora di stimolare l'asse ipotalamo- ipofisi surrene. (Chan YY. et al., 1996; Pierroz DD. et al, 1999).

La leptina funge quindi da mediatore chimico nel cervello ed è responsabile del mantenimento dell'aumento della pressione arteriosa che, a sua volta, è associata a condizioni di squilibrio energetico, proprio come l'obesità. Infatti la variabile più importante che determina la concentrazione di leptina circolante è l'indice di massa grassa corporea, la leptina, perciò, è strettamente correlata alla quantità di tessuto adiposo in modo esponenziale (Frayn KN. Et al., 2003). È inoltre stato dimostrato che la produzione di leptina si manifesta dopo l'aumento dell'insulina in risposta al cibo, ed una diminuzione della sua concentrazione segue la diminuzione di insulina durante i periodi di digiuno.

Nell'uomo la leptina sierica mostra una moderata variazione circadiana con un picco durante la notte (h 2:00 a.m.), le sue concentrazioni, misurate in questo periodo, risultano aumentate dal 30 al 100% rispetto alle concentrazioni osservate durante il giorno o nel primo pomeriggio (Sinha MK. et al., 1986). Nei cani la concentrazione plasmatica di leptina sembra invece essere influenzata dal ciclo digiuno/alimentazione; nello specifico, l'aumento di leptina plasmatica, immediatamente dopo l'assunzione di cibo, si osserva

dopo 5-8 h, per poi tornare lentamente ai suoi livelli basali 19 - 23 h dopo il pasto (Ishioka et al., 2005). Al contrario, quando i cani sono a digiuno, i livelli plasmatici di leptina diminuiscono gradualmente al di sotto dei valori basali, per poi ritornare nel range di normalità nelle 12 ore successive all'assunzione di cibo (Yilmaz et al., 2007).

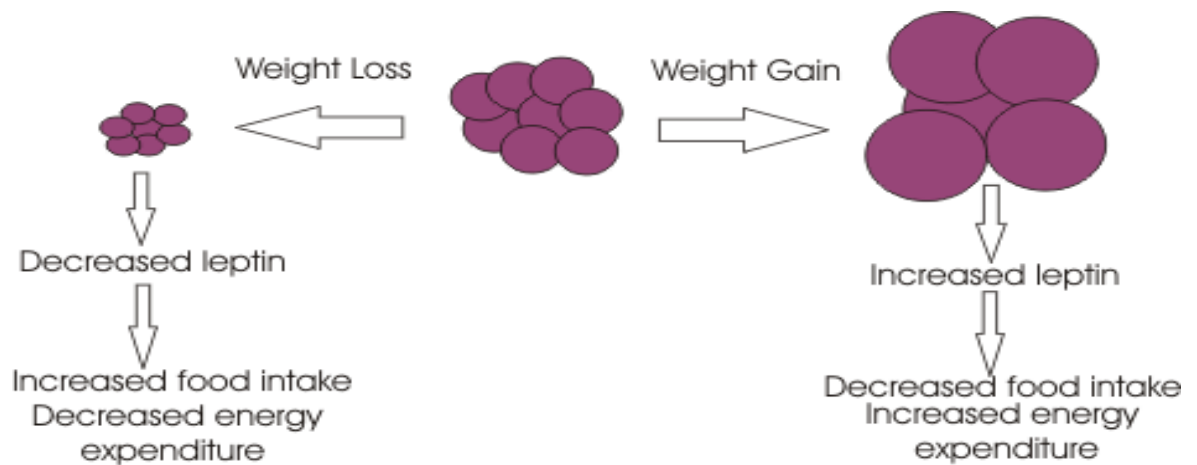
La concentrazione di leptina sierica risulta inoltre più alta nelle femmine rispetto ai maschi, e nell'uomo è dimostrata dipendere anche dall'età, risultando maggiore negli adulti rispetto ai bambini (Blum WF. et al., 1997).

Pazienti con insufficienza cardiaca cronica avanzata presentano un aumento della concentrazione sierica di leptina e dei suoi recettori solubili. La leptina partecipa quindi allo stato catabolico conseguente allo sviluppo della cachessia cardiaca in corso di insufficienza cardiaca congestizia (Shulze PC. et al., 2003). Nei topi e nell'uomo, la leptina plasmatica è correlata positivamente al contenuto di grasso corporeo e i soggetti obesi mostrano livelli più elevati dell'ormone rispetto a quelli non-obesi (Frederich et al, 1995.; Considine et al., 1996). Inoltre, negli esseri umani, un'alta concentrazione di leptina sierica è stata correlata alla quantità di tessuto adiposo viscerale, all'insulino-resistenza e alle patologie cardiovascolari (Rabe et al., 2008; Konstantinides et al., 2001).

Alcuni ricercatori hanno constatato che la leptina plasmatica nei cani è correlata positivamente al contenuto di grasso corporeo stimato dal metodo di diluizione con ossido di deuterio (Ishioka et al, 2002a;. Sagawa et al., 2002; Iwase et al., 2000b). Pertanto la leptina plasmatica può essere considerata un indicatore quantitativo di

adiposità in questa specie (**Fig 3**). Vale la pena notare che nessuna correlazione è stata riscontrata tra leptina plasmatica e il peso corporeo, suggerendo che la proteina è un affidabile indice quantitativo di obesità e adiposità, e non è influenzato dalla taglia, che, come è noto, rappresenta una notevole variabile nella popolazione canina.

Recenti studi hanno altresì dimostrato che il BCS si correla in modo positivo con i livelli di leptina plasmatica canina. Età, sesso e gonadectomia non hanno influenzato le concentrazioni plasmatiche di leptina, indipendentemente dal BCS, confermando il ruolo della leptina come affidabile indice quantitativo di adiposità e obesità in tale specie (Ishioka et al., 2007; Mazaki-Tovi et al, 2010; Jeusette et al., 2005). Sono state osservate variazioni della leptina plasmatica legata agli ormoni sessuali, sia negli esseri umani che nei topi. Più precisamente, nell'uomo gli estrogeni aumentano la produzione di leptina, mentre il testosterone la diminuisce (Shimizu et al., 1997; Behre et al., 1997). Nei cani, non si hanno informazioni sul rapporto tra la concentrazione di leptina plasmatica o sierica e il ciclo estrale.



**Fig. 3** Effetto della Leptina sugli adipociti (Ishioka et al, 2002)

Nelle cagne Beagle sterilizzate alimentate ad libitum, la leptina è uno dei primi parametri che aumenta quando vi è un aumento di peso, a differenza del colesterolo plasmatico, trigliceridi, glucosio, e insulina, che tendono a subire variazioni più tardive. (Jeusette et al., 2006). Una riduzione significativa della concentrazione plasmatica di leptina canina è stata riportata invece dopo il conseguimento del programma dietetico, in seguito alla perdita di peso che ha coinvolto 12 cani Beagle con un BCS medio di 7 (su una scala a 9 punti) (Jeusette et al., 2005). Alla fine del programma di restrizione dietetica i cani avevano un BCS inferiore (5) e un livello significativamente più basso di leptina plasmatica. Studi simili hanno confermato dunque il peculiare aumento della leptina plasmatica in seguito al dimagrimento (German et al., 2009).

La sintesi e la secrezione di leptina nei roditori e nell'uomo è regolata da una serie di fattori neuroendocrini quali insulina, glucocorticoidi, e catecolamine (Wabitsch et al., 1996). È stato osservato che la somministrazione sia di insulina che di glucosio influenza la

variazione diurna della leptina plasmatica nei cani a digiuno, dimostrando un lento ma significativo aumento dell'ormone circolante. Nel cane, inoltre, il cortisolo plasmatico non sembra essere responsabile di variazioni diurne, ma secondo recenti studi la somministrazione di 2 mg per via parenterale di desametasone determina un aumento lento, ma persistente, della leptina sierica in Beagles a digiuno; ciò probabilmente è da ascrivere all'attivazione da parte dei glucocorticoidi del gene che codifica la leptina (Ishioka et al., 2002b; Ishioka et al., 2005). Inoltre, si è visto che il metilprednisolone aumenta o diminuisce i livelli sierici di leptina nel cane in maniera dose- dipendente (1,5 o 10 mg / kg per via intramuscolare rispettivamente). Questi risultati indicano che è fondamentale essere a conoscenza dell'eventuale uso concomitante di sostanze come insulina o corticosteroidi nei cani prima della misurazione della leptina plasmatica, in quanto i valori ottenuti possono risultare falsati. Recentemente è stato dimostrato che cani ipotiroidei hanno concentrazioni di leptina sierica significativamente più elevate rispetto cani eutiroidei, appartenenti a tutte le classi di BCS. In condizioni fisiologiche, la leptina contribuisce alla regolazione degli ormoni tiroidei quando le loro concentrazioni si abbassano ed è quindi possibile che nell'ipotiroidismo questo meccanismo venga amplificato e, di conseguenza, permetta l'aumento della concentrazione del suddetto ormone.(Yilmaz et al. 2007; Mazaki-Tovi et al. 2010).

### ***Leptina e immunità***

La leptina presenta funzioni neuroendocrine e/o immunitarie. Essa può influenzare l'omeostasi del timo e la secrezione di fattori immunomodulanti come l'interleuchina 1 ed il TNF- alfa . Come le altre citochine pro-infiammatorie, la leptina promuove la differenziazione dei linfociti T helper 1 (Th 1) e può modulare l'inizio e la progressione della risposta autoimmune. In particolare la leptina, insieme alla Proteina C reattiva (CRP), IL-1, IL-6, può agire come fattore immunomodulante in fase acuta, venendo prodotta ad alti livelli durante l'infiammazione, sepsi, febbre, e può essere indotta da altri mediatori chimici dell'infiammazione come IL-1 e TNF alfa, (Friedman, J. M & Halaas, J. L., 1998).

Numerosi studi hanno permesso di confermare che la leptina modula il sistema immunitario agendo su recettori specifici (*Ob-Rb (L)*) presenti sulla superficie cellulare dei macrofagi, monociti, cellule polimorfo nucleate e linfociti T, sia CD4<sup>+</sup> che CD8<sup>+</sup> (De Marchi e Ferraccioli, 2002). In vitro la leptina esercita un effetto proliferativo e anti-apoptotico su diverse cellule, come i linfociti T, le cellule leucemiche ed i progenitori ematopoietici, potenziando altresì l'attività fagocitica delle cellule monocitiche - macrofagiche e regolando la secrezione di citochine; in tal modo viene favorita la produzione di IL-2, TNF-alfa e IFN- $\gamma$ .

Nel complesso la leptina appare necessaria per l'induzione ed il mantenimento di una risposta immune da parte dei linfociti T- helper 1 (Th1). Più precisamente, i linfociti T- helper 1 (Th1) stimolano le cellule citotossiche e attivano i macrofagi; i linfociti T – helper 2



(Th2) stimolano invece la produzione dei linfociti B e quindi la sintesi anticorpale (Poli e Cocilovo, 1998). Inoltre la leptina modula l'azione dei linfociti CD4<sup>+</sup> verso il fenotipo Th1, stimolando la produzione di IL-2 e IFN-  $\gamma$ , evidenza questa che sottolinea il legame tra lo stato nutrizionale e l'immunità cellulo- mediata, ovvero la relazione che lega sistema ormonale e sistema immunitario. È stata poi riscontrata l'espressione dell'm RNA *Ob-R* anche all'interno dei linfociti B, suggerendo l'intervento diretto della leptina sul controllo dell'immunità umorale (De Marchi e Ferraccioli, 2002).

### ***Leptina e cachessia***

L'attivazione di diverse citochine pro - infiammatorie (TNF- alfa, IL- 6, IL- 1 ed altri) sembra contribuire alla perdita di massa muscolare e allo sviluppo della cachessia in coro di insufficienza cardiaca congestizia (Levine B. et al., 1990; Anker SD. et al., 1997).

La forte correlazione tra i livelli sierici di leptina ed il TNF- alfa implica un coinvolgimento dell'ormone nella attivazione neurormonale nell'ultimo stadio dell'insufficienza cardiaca. È stato ipotizzato che la leptina agisca sia come marcatore che come mediatore dello stress legato all'obesità (Leroy P. et al., 1996; Lonnqvist F. et al., 1995). Di conseguenza è possibile interpretare l'aumento dei livelli sierici di leptina nell'insufficienza cardiaca, con l'attività del TNF-alfa. In uno studio condotto in medicina umana, infatti, si evince che i pazienti con insufficienza cardiaca, associata a cachessia, presentano livelli sierici di IL-6 aumentati e ridotti di leptina, mentre i recettori per il TNF-alfa non mostrano un incremento

significativo. Tali studi concludono che le concentrazioni sieriche di leptina sono correlate con i recettori del TNF-alfa nei pazienti cachettici affetti da insufficienza cardiaca (Gerasimos S. et al., 2000) . Altri studi hanno altresì evidenziato che nella cachessia cardiaca si osserva sia l'attivazione neuromonale che alti livelli di TNF-alfa, mentre i pazienti non cachettici affetti da insufficienza cardiaca presentano livelli più elevati di leptina (Ferrari R. 1997; Levine B. et al., 1990; Leyva F. et al., 1998).

Nei pazienti umani con insufficienza cardiaca sembra giocare un ruolo determinante anche l'edema dell'intestino che è il risultato di un'alterata permeabilità della mucosa ai batteri, e dell'endotossiemia che ne consegue, capace di attivare le citochine (Ancher SD. et al, 1997; Niebauer J., et al. 1999).

### ***Adiponectina***

L'adiponectina è un'adipochina composta da 247 aminoacidi, sintetizzata e secreta esclusivamente dal tessuto adiposo. È una proteina secretoria codificata da un gene espresso abbondantemente nel grasso viscerale (Maeda et al., 1996). Diversi studi hanno acclarato che gli esseri umani obesi hanno livelli plasmatici di adiponectina significativamente più bassi rispetto ai soggetti non-obesi (Arita et al., 1999), e che essa si correla negativamente con l'accumulo di grasso corporeo sia negli uomini che nelle donne (Arita et al., 1999). Gli effetti metabolici comprendono, quindi, una correlazione negativa tra obesità e livelli di adiponectina circolante,

che, invece, aumenta di pari passo alla perdita di peso (Faraj M. et al., 2003).

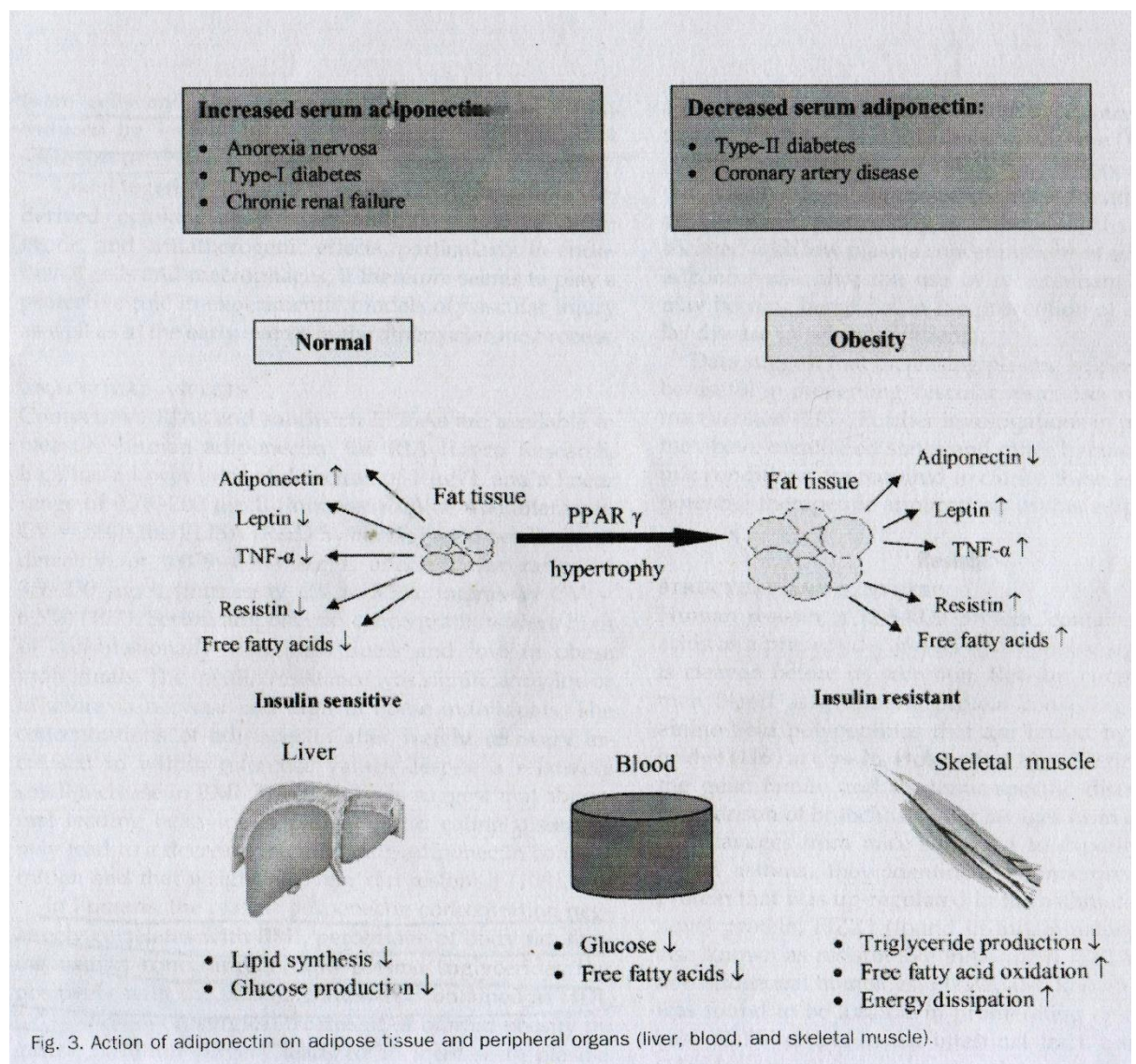
Ulteriori indagini condotte in medicina umana hanno dimostrato che il tessuto adiposo viscerale, in misura maggiore rispetto al tessuto adiposo sottocutaneo, è coinvolto nella secrezione di adipochine; ciononostante il meccanismo con cui l'adiponectina plasmatica diminuisce nell'obesità non è stato ancora del tutto chiarito. Tuttavia, è stato ipotizzato che un aumento dei livelli di TNF- alfa o di altre sostanze prodotte dal tessuto adiposo viscerale nei soggetti obesi, può essere responsabile dell'inibita sintesi o secrezione di adiponectina (Matsuzawa, 2006).

L'adiponectina è un proteina che regola l'omeostasi del glucosio e dei lipidi. Le concentrazioni plasmatiche di adiponectina circolante sono alquanto elevate e si aggirano intorno ai 500/30000 mcg /L. Essa diminuisce la sintesi dei lipidi e la produzione di glucosio nel fegato e comporta una diminuzione della concentrazione di glucosio e degli acidi grassi liberi nel sangue; in aggiunta, inibisce la produzione di trigliceridi e l'ossidazione dei grassi, oltre ad incrementare il consumo energetico nel muscolo. Inoltre l'adiponectina regola in maniera negativa la crescita delle cellule progenitrici della linea mielomonocitica e la produzione del TNF-alfa da parte dei macrofagi (Ouchi N. et al., 2002; Fernandez-Real JM. et al., 2003).

In umana la concentrazione plasmatica dell'adiponectina è correlata negativamente con il BMI, la percentuale di grasso corporeo con la concentrazione insulinica a digiuno con i trigliceridi plasmatici e

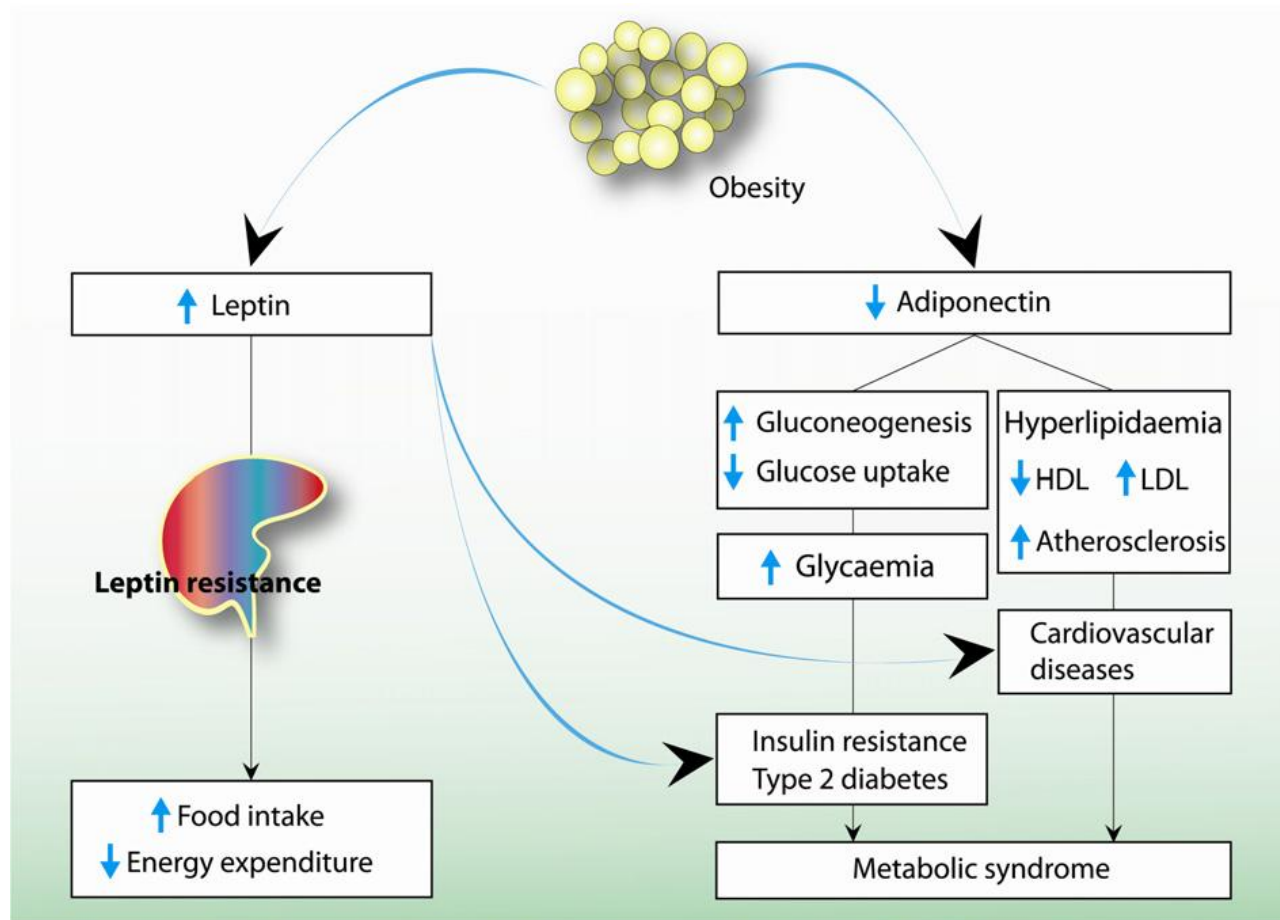
positivamente con il colesterolo plasmatico HDL (Cnop M. et al., 2003).

Tabella **Fig. 4** sono elencati gli effetti dell'adiponectina sul tessuto adiposo e sugli organi periferici



**Fig. 4** Azione dell'adiponectina sul tessuto adiposo e sugli organi periferici(fegato, sangue e muscolo scheletrico)

L'incremento sierico delle concentrazioni di adiponectina è associato all'aumento della sensibilità all'insulina ed alla tolleranza al glucosio (Goldfine A. et al., 2003). Inoltre l'adiponectina può influire sugli stati patologici combinati ad insulino resistenza, soprattutto in corso di diabete mellito di tipo II, di sindrome metabolica e, chiaramente nei soggetti obesi. Basse concentrazioni di adiponectina sono state correlate a gravi forme di insulino-resistenza che accompagnano una lipoatrofia sia negli animali che nell'uomo (Ravussin E. et al., 2003).



**Fig. 5** Leptino- resistenza e meccanismo d'azione di leptina ed adiponectina nella patogenesi dell'obesità

Bassi livelli di adiponectina negli esseri umani sono stati inoltre associati a diverse patologie, come l'aterosclerosi, diabete di tipo 2 e insulino-resistenza (Bastard et al., 2006).

In medicina veterinaria la concentrazione plasmatica di adiponectina è inversamente correlata all'aumento di peso corporeo nei cani, mentre un incremento del suo livello è associato al dimagrimento (Ishioka et al., 2006). Di contro, German e collaboratori (2009) non hanno osservato differenze significative prima e dopo la perdita di peso in un gruppo di cani Beagles obesi insulino-resistenti.

### ***Citochine pro - infiammatorie (IL - 6, TNF – alfa)***

Come precedentemente accennato il tessuto adiposo bianco (WAT) secreta diverse citochine e chemochine collegate all'infiammazione, come il TNF-alfa e l'IL-6, (Gregor MF et al., 2007, Rajala MW et al., 2003; Rosen ED et al, 2006, Trayhurn P et al., 2001, Trayhurn P et al. 2004). L'instaurarsi della risposta infiammatoria nei soggetti obesi, legata al reclutamento dei macrofagi a livello del tessuto adiposo, è considerata un punto di partenza per lo sviluppo delle patologie associate all'obesità (Weisberg SP et al., 2003, Xu H et al., 2003; Hotamisligil GS, 2006; Hotamisligil GS, 2009, Kahn SE et al, 2006; Yudkin JS, 2003).

Le citochine pro-infiammatorie sono numerose e hanno diverse origini e differenti “target” e funzioni; sono secrete principalmente dai monociti, vengono attivate dalle tossine batteriche o in risposta al danno tissutale locale e diffondono nel circolo ematico dove possono essere rilevate “a picchi”, cioè in modo pulsatile (Petersen et al,

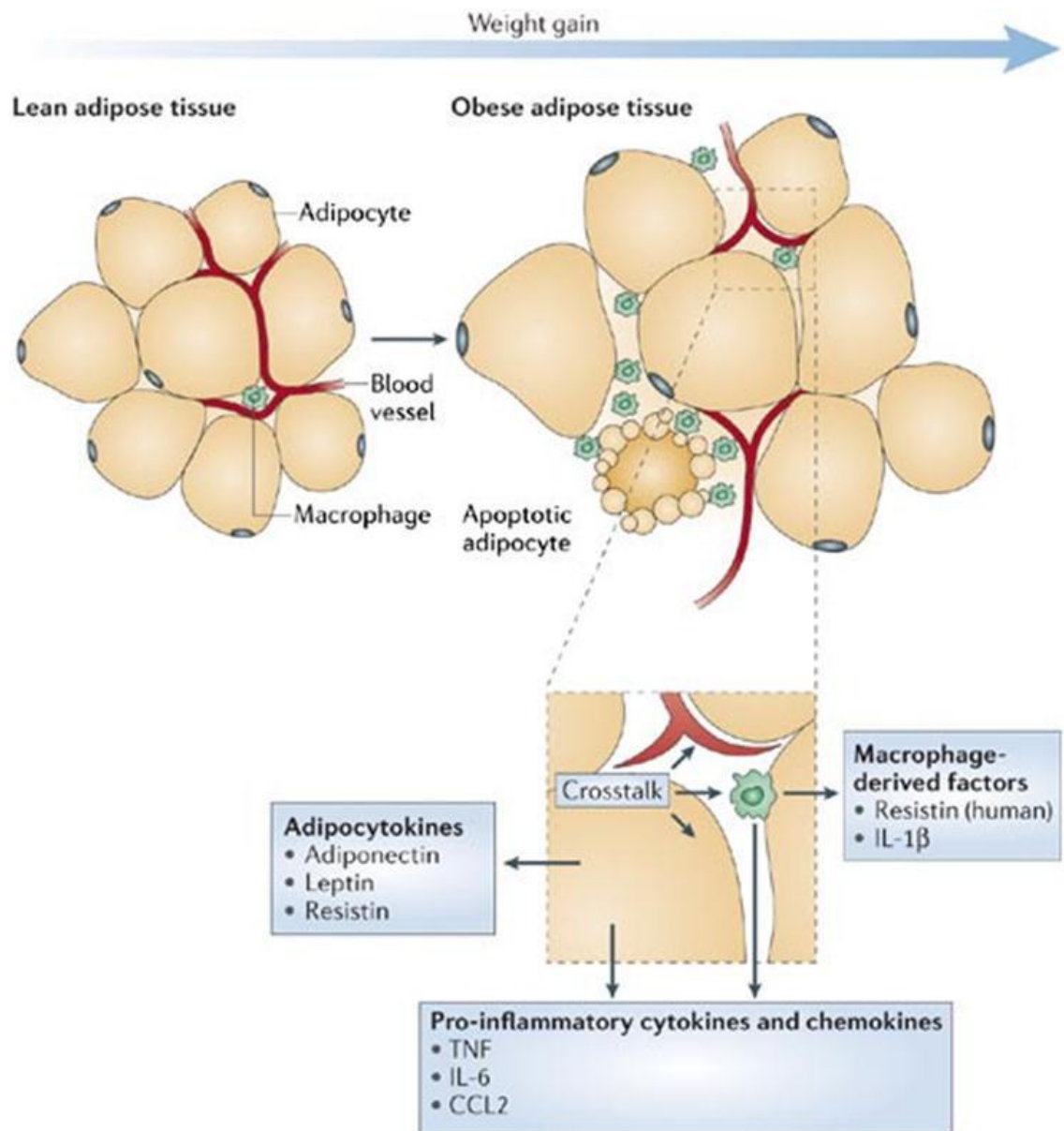
2004); esse mostrano sia effetti locali che sistemici tramite il trasporto attraverso il circolo ematico ai vari organi target (Baumann e Gauldie, 1994). Tali citochine possono essere divise in due principali classi: le citochine tipo IL-1 (IL-1 e TNF- alfa) e le citochine tipo IL-6 (Petersen et al, 2004). Le citochine tipo IL-1 rappresentano un segnale primario “autostimolatorio” e scatenano il rilascio di citochine di tipo IL-6 che fungono da segnale secondario. L'interleuchina-6 (IL-6) nell'uomo è la più importante regolatrice della risposta di fase acuta; essa è sintetizzata da macrofagi, fibroblasti e cellule endoteliali ed agisce direttamente sulle cellule B a sua volta attivate da IL-4 e IL-5, inducendo la produzione di immunoglobuline di tipo M, G ed A. La secrezione di IL-6 è anche controllata dai corticosteroidi: il desametasone, infatti ne inibisce la produzione da parte dei monociti (Woloski et al, 1985). Questa citochina in vivo agisce su numerose cellule “target”, tuttavia gli epatociti sono quelli maggiormente coinvolti, attraverso la sintesi di proteine della fase acuta. IL-1 e TNF- alfa stimolano i fibroblasti, le cellule endoteliali e i cheratinociti a sintetizzare IL-6 e, in questo modo, amplificano la sua attività biologica. È stato dimostrato che IL-1, IL-6 e TNF- alfa favoriscono inoltre il rilascio di ACTH dalle cellule pituitarie, comportando un aumento della secrezione di glucocorticoidi da parte delle cellule surrenaliche. I glucocorticoidi, quindi, da un lato aumentano l'effetto stimolante delle citochine sulla sintesi delle proteine di fase acuta da parte degli epatociti, dall'altro inibiscono la sintesi delle citochine stesse.

Nel cane la produzione e il rilascio delle sostanze da parte degli adipociti sono regolati dalla citochina pro-infiammatoria TNF-alfa, e

ciò suggerisce che queste cellule sono molto sensibili agli stimoli infiammatori (Ryan VH et al., 2008). Nell'obesità umana è stato infatti dimostrato che le concentrazioni plasmatiche di questa citochina sono aumentate, e che sono alla base del fenomeno dell'insulino-resistenza, spesso associato all'obesità (Lindblad-Toh K et al., 2005).

Il fattore di necrosi tumorale (TNF-alfa) interviene nei processi infiammatori ed immunitari, provocando effetti citotossici su diversi tipi di cellule, oltre che su agenti patogeni (virus e batteri) (German et al., 2010). In uno studio recente, è stato dimostrato che tassi elevati di TNF-alfa inducono una lieve diminuzione dell'espressione genica di leptina e adiponectina negli adipociti di cane, e che la sua produzione, a differenza di quanto si è dimostrato in uomo e topo, è maggiore nei precursori delle cellule adipocitarie rispetto agli adipociti maturi. Ciò indica una diretta regolazione da parte del TNF-alfa sulle funzioni degli adipociti, compresa la capacità di secernere leptina e adiponectina (Ryan VH. et al., 2008).





**Fig 6** L'inflammation chronique associée au tissu adipeux caractérise une gamme d'altérations pathologiques qui vont de l'obésité à l'hypertension. La protéine Angiopoïétine-2 déclenche la cascade inflammatoire, conduisant à un remodelage des vaisseaux sanguins, ainsi qu'au recrutement des macrophages dans le site d'inflammation (Xu et al., 2003).

### ***Metodi per stimare lo stato di nutrizione nel cane***

La stima dello stato di nutrizione rappresenta un problema che il medico veterinario deve affrontare durante la visita clinica, soprattutto quando è necessario valutare il grado di sovrappeso di un animale, in quanto non è stato ancora correttamente delineato il peso corporeo ideale in funzione delle diverse razze canine.

In medicina umana è, infatti, relativamente semplice calcolare l'intervallo di peso ottimale utilizzando il Body Mass Index o Indice di Massa Corporea, (BMI), in relazione al costante rapporto fra peso ed altezza del soggetto. In campo veterinario, invece, non sono disponibili tabelle standardizzate a causa della notevole diversità presente all'interno delle razze; pertanto vengono utilizzati altri metodi, meno rigorosi, più empirici ma altrettanto validi.

Il metodo più semplice è quello di considerare il peso corporeo; va comunque sottolineato che per quanto sia facile risalire al peso di un cane, esso rappresenta un parametro di scarsa utilità, in quanto, come già accennato, non si conosce il peso ideale di un determinato soggetto soprattutto quando si ha di fronte un meticcio.

Per quanto riguarda alcuni cani è possibile, comunque, far riferimento agli specifici standard di razza, tuttavia spesso c'è una grossa variabilità anche all'interno della stessa razza in funzione della diversa altezza. (**Tabella 1**).

Un eccesso di peso corporeo (BW) oltre il 15% rispetto al peso ideale è indicativo di una condizione di sovrappeso. Il BW per sé non può essere utilizzato per valutare la composizione corporea di un animale, ovvero massa grassa o massa muscolare, per cui cani con lo stesso BW possono avere una diversa composizione corporea.

Negli esseri umani, il BMI è stato sviluppato per stimare la percentuale di massa grassa e magra per un determinato peso corporeo, e quindi il rischio per la salute legato all'obesità. Questo indice viene ottenuto dividendo il peso espresso in Kg con il quadrato dell'altezza espressa in metri. Il risultato di tale formula classifica il soggetto in un'area di peso che può essere: normale - sottopeso - sovrappeso - obesità di medio grado - obesità di alto grado.

Nei cani alcuni ricercatori hanno dimostrato che nel Labrador Retriever una massa grassa superiore al 25% è associata a resistenza all'insulina con riduzione della longevità e ad una maggior predisposizione verso patologie croniche invalidanti. La stima della percentuale di grasso è, quindi, importante per determinare il grado di obesità e il rischio per la salute dell'animale. Conoscere la percentuale della massa grassa e muscolare è altresì indispensabile per valutare i progressi durante il programma di dimagrimento, con l'obiettivo di mantenere costante la massa magra riducendo, di contro, quella grassa (Lawler et al., 2008).

Esistono metodi soggettivi e oggettivi per valutare il peso corporeo nella specie canina. Quelli oggettivi comprendono il BW, la Dual - energy X-ray assorbimetria (DEXA), gli isotopi pesanti, l'ecografia, l'impedenziometria bioelettrica. Tali metodi stabiliscono direttamente o indirettamente la quantità di tessuto adiposo presente in un determinato soggetto.

## **BCS**

Tra i metodi soggettivi ricordiamo il Body Conditional Score (BCS) che nel cane è la tecnica tutt'oggi maggiormente utilizzata; questa metodica non presenta misure “quantificate” o “standard” per la specie canina, ma si avvale di una descrizione puramente soggettiva che il clinico effettua secondo alcune linee guida che sono state inizialmente create per la valutazione dello stato di nutrizione dei bovini e successivamente adattate ai piccoli animali.

Per attribuire un corretto BCS ad un animale si devono considerare alcuni punti di repere: le prominenze ossee della testa del tronco e del bacino, lo spessore del tessuto adiposo e la forma del tronco tendenzialmente “a clessidra”, se osservata dall'alto. È comprensibile come tale metodica presenti dei limiti, dovuti appunto alla soggettività con cui viene effettuata, alla notevole differenza “interrazziale” e alla presenza di soggetti meticci.

Sono state suggerite diverse scale di valutazione, ma quelle più utilizzate sono quella a 5 punti (*1=molto magro, 2=sottopeso, 3=peso ideale, 4=sovrappeso, 5=obeso*) e quella 9 punti (*1-4=da emaciato a magro, 5=optimum, 6-9=sovrappeso/obeso*) proposta da Laflamme e collaboratori (1997). Gli animali che presentano un valore di BCS medio sono quelli con peso ottimale e con una massa adiposa che in funzione della razza varia dal 7 al 13%.

I vantaggi di questo sistema di valutazione sono rappresentati dalla rapidità e dalla relativa facilità di impiego; inoltre esso è utile anche in fase preventiva ed è, in più, di ausilio per la diagnosi di altre condizioni patologiche.

Il passaggio dalla scala a 5 punti a quella a 9 si può attuare facilmente applicando una gradazione intermedia: nella scala a 5 gradi ogni mezzo grado al di sopra del grado 3 corrisponde ad un aumento di peso del 10%, mentre quando si utilizza un indice corporeo a 9 gradi ogni grado rappresenta un incremento del 9% della massa grassa (Mawby et al., 2000). Utilizzando il punteggio a 9 punti è stato possibile dimostrare che cani con BCS ideale di 5 hanno  $19 \pm 8\%$  di massa grassa. Un aumento del 5% della massa grassa viene osservato con ciascun punto aggiunto (Laflamme et al, 1994; Laflamme, 1997).

Il BCS a 5 punti (**Tab.4**) comprende:

**BCS 1 : TROPPO MAGRO** Si possono facilmente palpare e contare le costole, senza alcuno strato di grasso sovrastante. La base della coda ha una struttura ossea prominente senza tessuto connettivo tra pelle e osso. Le prominenze ossee si possono facilmente tastare senza alcuno strato di grasso di rivestimento. Cani di età superiore a sei mesi hanno un profondo incavo addominale se osservati lateralmente, e un'accentuata forma a clessidra, se osservati dall'alto.

**BCS 2 : SOTTOPESO** Le costole si possono facilmente palpare con un minimo rivestimento di grasso. la base della coda ha una struttura ossea prominente con una piccola quantità di tessuto connettivo tra pelle e osso. Le prominenze ossee si possono facilmente tastare con una minima quantità di grasso di rivestimento.

Canis di età superiore a sei mesi hanno un incavo addominale visti lateralmente, ed una marcata forma a clessidra se visti dall'alto.


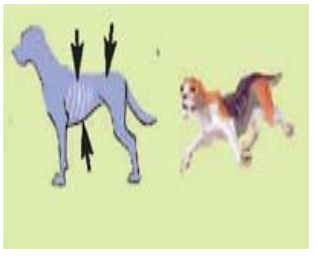
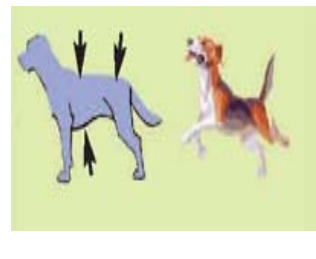
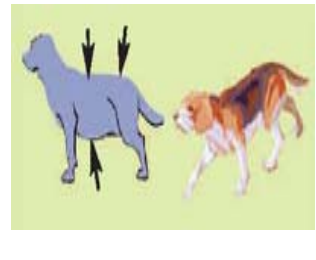
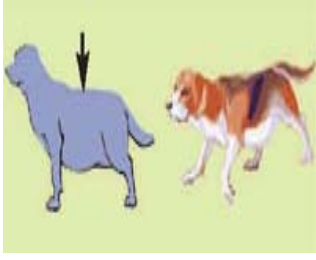
**BCS 3 : IDEALE** Le costole sono palpabili con una sottile copertura di grasso. La base della coda presenta un contorno liscio o un lieve

ispessimento. Le strutture ossee sono palpabili sotto un sottile strato di grasso tra pelle e osso. Le prominenze ossee sono facilmente tastabili sotto una minima quantità di grasso di copertura. Cani di età superiore a sei mesi hanno un lieve incavo addominale visti lateralmente e una cintura lombare ben proporzionata se visti dall'alto.

**BCS 4 : SOVRAPPESO** Le costole sono difficilmente palpabili con una moderata copertura di grasso. La base della coda presenta alcuni ispessimenti con una moderata quantità di tessuto tra pelle e osso. Le strutture ossee possono essere ancora tastate. Le prominenze ossee sono ricoperte da un moderato strato di grasso. Cani di età superiore ai sei mesi presentano un leggerissimo o assente incavo addominale visti lateralmente. La parte posteriore è leggermente allargata vedendola dall'alto.

**BCS 5 : OBESO** Le costole possono essere tastate con grande difficoltà sotto la copertura di grasso. La base della coda appare ispessita ed è difficile da sentire sotto un prominente strato di grasso. Le prominenze ossee presentano da una moderata a una spessa copertura di grasso. Cani di età superiore ai sei mesi di età mostrano un rigonfiamento ventrale pendulo e nessuna cintura visti lateralmente a causa dell'esteso deposito di grasso. La parte posteriore è marcatamente allargata vedendola dall'alto. La linea dorsale può risultare più o meno avallata.

**Tab.4 – BCS: Body Condition Score a 5 punti**

<b>Caratteristiche</b>	<b>Stato di nutrizione</b>	<b>Palpazione</b>
	<b>1. Cachessia</b> più del 20% al di sotto del peso ottimale	Costole, colonna vertebrale e ossa del bacino chiaramente visibili (pelo corto). Evidente perdita di massa muscolare. Assenza di grasso palpabile su gabbia toracica e prominenze ossee.
	<b>2. Magrezza</b> 10-20% al di sotto del peso ottimale	Costole, sommità delle vertebre e ossa del bacino visibili. Evidente cinto addominale (giro vita). Assenza di grasso palpabile attorno alla gabbia toracica.
	<b>3. Peso ideale</b>	Costole e colonna vertebrale non visibili, ma chiaramente palpabili. Evidente cinto addominale (giro vita). Sottile strato adiposo palpabile sulla gabbia toracica.
	<b>4. Sovrappeso</b> 10-20% al di sopra del peso ottimale	Costole e colonna vertebrale palpabili con difficoltà. Assenza di cinto addominale (giro vita). Evidente deposito adiposo intorno su colonna vertebrale e base della coda.
	<b>5. Obesità</b> 40% o più al di sopra del peso ottimale	Imponente deposito adiposo intorno a cassa toracica, colonna vertebrale e base della coda. Evidente distensione addominale.

Nella Tabella 5 vengono comparate le due scale attualmente utilizzate nel cane.

***Tabella 5 BCS: Body Condition Score a 9 punti (confronto 5/9)***

<b>5</b>	<b>Descrizione</b>	<b>9</b>
1/5	Coste, vertebre lombari, ossa pelviche e tutte le prominenze ossee visibili a distanza. Grasso corporeo non distinguibile. Evidente perdita di massa muscolare.	1/9
1,5/5	Coste, vertebre lombari e ossa pelviche facilmente visibili; grasso non palpabile. Qualche evidenza di altre prominenze ossee.	2/9
2 /5	Perdita minima di massa muscolare. Minima presenza di grasso palpabile. Sommità delle vertebre lombari visibili. Le ossa pelviche divengono prominenti. Vita evidente.	3/9
2,5/5	Coste facilmente palpabili con minimo rivestimento di grasso . Vita facilmente identificabile dall'alto.	4/9



Piegua addominale evidente.

3/5 Coste palpabili senza eccessivo rivestimento di grasso. 5/9

Vita osservabile dietro le coste dall'alto.

Piegua addominale presente.

.

3,5/5 Coste palpabili con rivestimento di grasso 6/9

lievemente in eccesso. Vita apprezzabile dall'alto  
ma non evidente. Piegua addominale apprezzabile.

4/5 Coste difficilmente palpabili; spesso strato di grasso; 7/9

depositi di grasso visibili sulla regione lombare e  
alla base della coda; vita assente o scarsamente visibile;  
può essere presente la piegua addominale.

4,5/5 Coste non palpabili sotto uno strato di grasso molto 8/9

spesso o palpabili solo con una significativa pressione.

Spessi depositi di grasso sulla regione lombare e  
alla base della coda. Vita assente

No piegua addominale. Può essere presente  
un' evidente distensione addominale

5/5 Massiccio deposito di grasso su torace, colonna vertebra 9/9

e base della coda. Vita e piegua addominale assenti.

Depositi di grasso su collo e arti.

Distensione addominale evidente

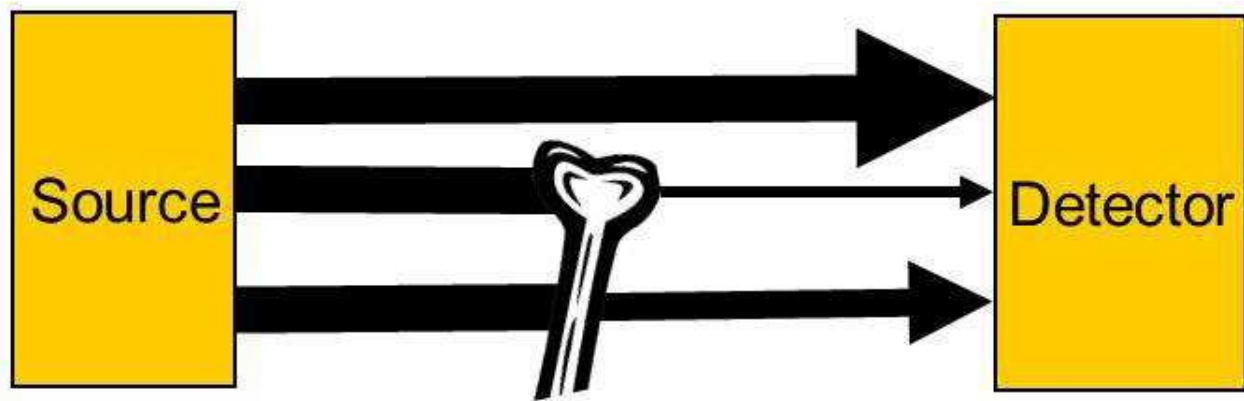
### ***Dual - energy X - ray assorbimetria (DEXA)***

La DEXA (Dual - energy X - ray assorbimetria) viene di norma utilizzata in medicina umana, per calcolare la densità minerale dell'osso. La DEXA è stata originariamente sviluppata per lo screening delle donne dopo la menopausa, con l'intento di rilevare i primi segni dell'osteoporosi, sulla base della densità minerale ossea e dall' estrapolazione del contenuto minerale osseo (BMC). Per minimizzare l'errore nella misurazione del BMC, le macchine utilizzano algoritmi per calcolare la massa magra e grassa dei tessuti, i cui risultati vengono successivamente confrontati con standard di plastica usati per la calibrazione. La DEXA utilizza due raggi x a bassa energia (70 e 140 kVp) che sono attenuati dai differenti strati di osso e dei tessuti molli; dall'immagine radiografica prodotta, viene calcolata la densità del tessuto utilizzando algoritmi informatici specifici per ogni regione del corpo. Il metodo con cui la DEXA stima quindi la composizione corporea si basa sul principio che l'intensità dei raggi X, che passano attraverso i tessuti, è attenuata in proporzione alla massa del tessuto considerato.

La DEXA, quindi, è un sistema che utilizza fotoni di due differenti livelli energetici per distinguere il tipo e la quantità di tessuti esaminati attraverso una fonte di raggi X ed è utilizzata per quantificare il contenuto minerale osseo e la composizione dei tessuti molli, supponendo che l'idratazione della massa grassa rimane costante al 73%. La metodica DEXA è stata validata nei cani per la

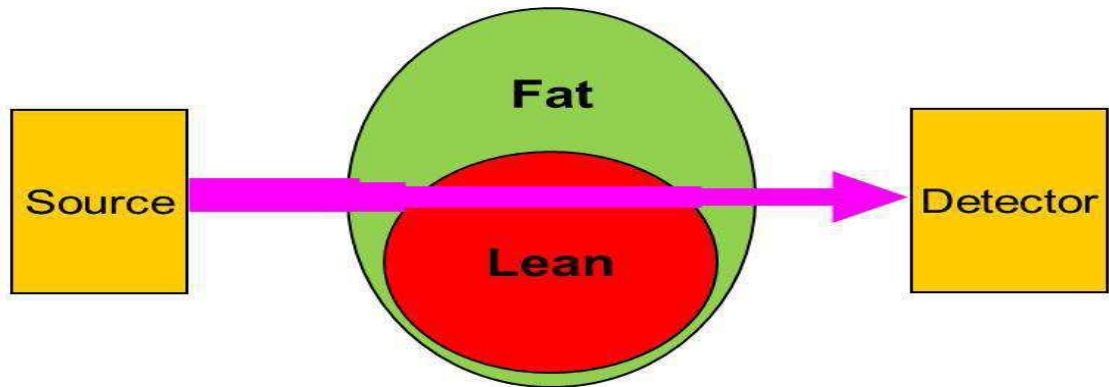
stima della composizione corporea, confrontando l'analisi chimica di carcasse di animali (Munday et al., 1994; Lauten et al, 2001; Speakman et al, 2001; Raffan et al, 2006).

La DEXA è in grado di quantificare rapidamente la massa magra, quella grassa, la massa totale del corpo, ed, infine la densità e la massa minerale ossea. (**Figura7**).



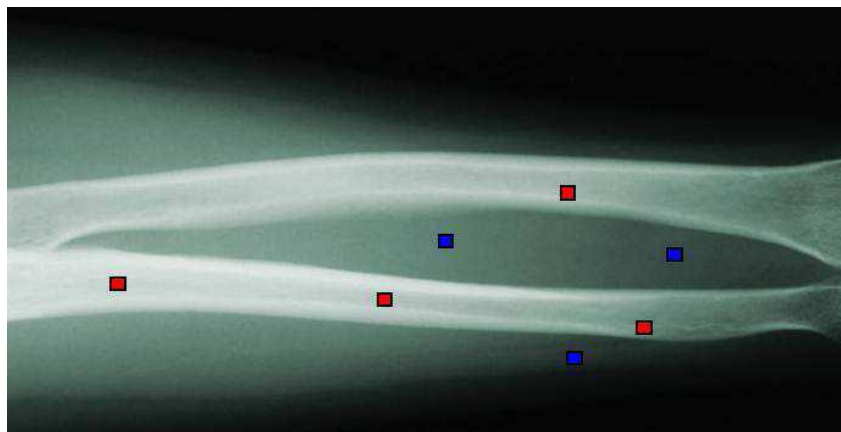
**Fig. 7:** Rappresentazione dell'attenuazione dell'intensità dei raggi X che attraversano un tessuto. L'attenuazione dei raggi X è proporzionale alla massa tessutale.

L'attenuazione dell'intensità di un singolo fascio di raggi X può essere calcolata in base ad un'equazione prestabilita (modificato da Jebb, 1997). Se è presente più di un tipo di tessuto, l'attenuazione dei raggi X è in funzione di ciascuno dei singoli componenti del tessuto stesso che contribuisce alla attenuazione totale del fascio (**Figura8**).



**Fig. 8.** Rappresentazione dell'intensità dei raggi X che passano attraverso due tipi di tessuto. La totale attenuazione del fascio è una combinazione dei contributi dei due singoli tessuti, ciascuna ad una velocità diversa.

Il rapporto tra le diverse costituenti del tessuto contribuisce alla totale attenuazione del fascio in due modelli di tessuto (ad esempio il tessuto grasso e magro). Quando coesistono più di due componenti di tessuto, (ad esempio ossa, tessuto adiposo e massa magra), la DEXA non può calcolare direttamente la proporzione relativa di tutti e tre i componenti, ma può calcolarlo indirettamente, distinguendo le aree di scansione che contengono tessuti molli (massa magra e grassa combinate) da quelle contenenti tessuto osseo e molle (**Figura 9**).



**Fig. 9.** Immagine radiografica raffigurante il metodo DEXA per la stima della composizione corporea da un scansione. La DEXA distingue regioni (pixel) contenenti ossa (quadrati rossi) da regioni prive di osso (pixel blu).

Nelle aree prive di osso, la DEXA può stimare direttamente la percentuale di tessuto grasso e magro. Per le aree in cui è presente tessuto osseo invece, la DEXA determina la percentuale di mineralizzazione distinguendole dalla componente molle.

In uno studio effettuato nel cane, l'impiego della DEXA ha permesso di valutare i cambiamenti della densità minerale ossea in animali traumatizzati (Markel e Bogdanske, 1994b). I risultati suggeriscono che tale tecnica può essere utilizzata per controllare efficacemente le variazioni della densità ossea del piano fratturato, rappresentando uno strumento estremamente efficace per il controllo del paziente post-traumatizzato. Parimenti, nel cane obeso, la DEXA è potenzialmente uno strumento adatto per monitorare l'efficacia di terapie nutrizionali, finalizzata alla riduzione del peso.

Purtroppo però nella pratica clinica coesistono una serie di problemi logistici che rendono l'impiego di tale metodica poco accessibile,

quali la possibilità di accedere alle attrezzature in aggiunta alla notevole perdita di tempo per eseguire una singola scansione.

Studi a carattere sperimentale hanno evidenziato che per poter svolgere l'esame i cani devono essere anestetizzati o sedati, per evitare movimenti durante le scansioni, le quali durano in media circa 20 min. Il cane viene posto in decubito laterale, utilizzando una composizione predeterminata di DEXA, con un programma total body, che si è visto essere compatibile per cani di peso > 10 kg (Speakman et al., 2001). La scansione viene analizzata per la BMC, la massa magra e quella grassa.

Come già detto la DEXA si basa sul presupposto che il contenuto di acqua del tessuto magro è di circa il 73%, sebbene ciò non sia verosimile in tutte le circostanze (Burkholder & Thatcher, 1998); le alterazioni dell'idratazione, a causa dell'invecchiamento, di malattie o di differenze di specie influiscono sulle equazioni fondamentali utilizzate, portando di conseguenza ad un errore nella quantità di tessuto magro attribuito a ciascun pixel. La DEXA stima accuratamente la massa totale del corpo e inoltre permette di determinare le variazioni della composizione corporea nel tempo in modo attendibile, utilizzando un protocollo standardizzato (Munday et al, 1994.; Lauten et al, 2001; Speakman et al, 2001; Mawby et al, 2004). Per validare il metodo, la DEXA è stata confrontata con altre metodologie, quali l'analisi chimica delle carcasse disossate o sezionate, o la diluizione isotopica con l'ossido di deuterio (Speakman et al., 2001; Mawby et al., 2004). Quest'ultimo metodo si basa sulla percentuale di grasso corporeo, che può essere stimato dalla diluizione dell'isotopo nella massa totale del corpo, basandosi sul presupposto

che la maggior parte dell'acqua si trova nei tessuti che non contengono grassi (Diez et al, 2002;. Bierer & Bui, 2004). È stato dimostrato che una variazione interspecie per la DEXA è simile a quella data da altri metodi, con valori che si aggirano intorno all'1% utilizzando l'algoritmo canino specifico (Speakman et al., 2001; Burkholder e Thatcher, 1998; Son et al, 1998; Burkholder, 2001). In generale, l'errore riscontrato nell'utilizzo della DEXA per la stima del grasso corporeo e della componente magra, è inferiore al 2,5% (Burkholder, 2001). Tuttavia, la DEXA non è in grado di distinguere tra il compartimento liquido intra ed extracellulare, impossibilità che può rappresentare un problema nelle patologie in cui si verificano alterazioni dei compartimenti fluidi. Si è anche pensato che la DEXA possa sottostimare la quantità di tessuto adiposo presente nei muscoli scheletrici, ma questa imprecisione è controbilanciata da errori di interpretazione del contenuto di acqua del tessuto adiposo mesenterico, con conseguente sovrastima della componente magra del grasso mesenterico (Mawby et al., 2004). È stato altresì descritto un "effetto-razza" sulla composizione corporea in varie specie geneticamente selezionate (bovini, ovini, maiale, topo, ecc). Anche nei cani, è già stato sospettato un "effetto razza" sulla composizione corporea, sottolineando di conseguenza la notevole influenza legata ai fattori genetici (Lauten et al, 2001.; Speakman et al, 2003; Drost et al, 2006). Recentemente Parker e collaboratori (2004) hanno ottenuto una variazione genetica tra le diverse razze del 27% rispetto a quella dimostrata tra le varie popolazioni umane (5,4%). L'effetto razza è dovuto alla trasmissione genica di alcune caratteristiche, tra le quali è compresa anche la quantità di tessuto adiposo presente nell'organismo, che è quindi prestabilita e pressoché specifica per la

razza di appartenenza (Parker et al., 2004). Una differenza nella composizione corporea dei cani Greyhound è già stata supposta in quanto questi levrieri presentano fisiologicamente una maggiore concentrazione creatinina sierica senza un tasso di filtrazione glomerulare ridotto, il che potrebbe essere spiegato con l'alto contenuto di massa muscolare presente tipico di questa razza (Drostet al., 2006). Il Siberian Husky ed i soggetti appartenenti a questa razza, sottoposti a DEXA hanno mostrato una maggior quantità di grasso corporeo, senza variazioni significative in funzione dell'età, del sesso e delle dimensioni del soggetto sul valore del grasso effettivo stimato (Parker et al, 2004;,. Parker e Ostrander, 2005). Al contrario, questa stima differisce in modo significativo tra le diverse razze e tra i gruppi genetici di appartenenza. È stata altresì osservata una migliore correlazione tra la massa magra stimata con la DEXA e quella calcolata dall'impedenziometria bioelettrica (BIA) (Jeusette I et al., 2010).

### ***Impedenziometria bioelettrica (BIA)***

L'impedenziometria Bioelettrica (BIA) è un test di screening affidabile e relativamente accessibile per la stima della composizione corporea nell'uomo. Questa metodica misura la resistenza di un segnale elettrico passante attraverso l'acqua presente nei muscoli e in minima parte nel tessuto adiposo. Il test si basa sull'assunto che più la massa muscolare del paziente è sviluppata, maggiore sarà la quantità d'acqua presente nell'organismo. Di conseguenza maggiore è la quantità di acqua contenuta nel corpo di un paziente, più è facile per la



corrente stessa fluire attraverso di essa. Di contro, la resistenza alla corrente è maggiore in un tessuto più ricco di grasso (Kyle et al., 2004).

I fluidi corporei extra e intracellulari ed gli elettroliti sono responsabili della conduttanza elettrica, mentre le membrane cellulari producono capacitanza. La BIA è stata introdotta dapprima nell'uomo per calcolare la quantità d'acqua presente nel corpo. Successivamente, è stato utilizzata per stimare la massa magra e la composizione corporea. Il procedimento si basa, quindi, sul presupposto che il grasso ha un contenuto trascurabile di acqua mentre la massa magra presenta una quota di acqua costante e nota (73%) (Jeusette I et al., 2010).

La BIA è basata sul principio che i tessuti biologici si comportano come conduttori, semiconduttori o dielettrici (isolanti). Le soluzioni elettrolitiche intra ed extracellulari dei tessuti magri sono ottimi conduttori, mentre osso e grasso sono sostanze dielettriche, e non vengono attraversati dalle correnti utilizzate nei pletismografi d'impiego clinico (Heymsfield SB. et al., 1996; Foster KF. et al., 1996).

Come è noto i fluidi del corpo vengono ripartiti in acqua corporea totale (total body water, TBW), distribuita nei compartimenti intracellulare (LIC) ed extracellulare (LEC), questo è a sua volta suddiviso in intravascolare ed interstiziale. Ad eccezione dello spazio intravascolare e di eventuali raccolte patologiche, i fluidi non sono liberi ma legati e distribuiti nella struttura della massa corporea. Quest'ultima può essere pensata in termini di un modello bicompartimentale, come massa grassa (fat mass, FM) e massa priva

di grasso (fat free mass, FFM). Gran parte delle applicazioni della BIA convenzionale sono basate sul modello bicompartimentale. La massa senza grasso può essere ulteriormente ripartita in massa magra (lean body mass) e contenuto minerale osseo, ottenendo un modello tricompartimentale della massa corporea (Heymsfield SB. et al., 1996), impiegato nelle analisi DEXA a corpo intero.

L'impedenza bioelettrica impiega una corrente alternata a intensità e frequenza (50 kHz) costanti, che viene trasferita alla cute per mezzo di elettrodi. Una volta attraversato le soluzioni elettrolitiche del LEC e del LIC di tutti i tessuti, esclusi grasso e osso, genera un Vettore impedenza ( $Z$ ), espresso in Ohm. Le membrane cellulari e le interfacce dei tessuti sfasano la conduzione di corrente (angolo di fase fra tensione e corrente del vettore  $Z$ ) generando la componente capacitiva di  $Z$ , ovvero  $X_c$  (Heymsfield SB. et al., 1996; Foster KF. et al., 1996).

La BIA quindi può riconoscere e misurare, nello specifico, solo il compartimento conduttore dei tessuti, compartimento espresso come valore di  $R$  dalle soluzioni elettrolitiche intra ed extracellulari, e come valore di  $X_c$  dall'insieme delle membrane cellulari del compartimento stesso.

### ***Isotopi pesanti***

Questa tecnica non invasiva validata nel cane si basa sul presupposto che l'acqua corporea viene immagazzinata principalmente nel tessuto magro, e rappresenta un mezzo indiretto per la misurazione della massa magra stessa (Pounteau et al., 1998; Son et al., 1998). La

quantità di acqua corporea può essere stimata determinando la diluizione dell'ossido di deuterio (D<sub>2</sub>O) o di acqua arricchita con O<sub>18</sub>. La massa grassa e la sua percentuale possono essere calcolate sulla base delle differenze.

Tra le tecniche disponibili per la valutazione dell'acqua corporea totale (TBW) la diluizione con isotopi è stata utilizzata per diverso tempo per la stima indiretta della composizione corporea e per il dispendio energetico negli animali ( Wang, Z. et al., 1999; Lifson, N., et al., 1955). Gli isotopi possono essere dosati nel plasma dopo l'iniezione di una dose nota di acqua "marcata". La TBW consente quindi il calcolo della massa magra, tenendo in considerazione che l'idratazione della stessa è costante (circa 73,2%) (Pace, N. & Rathburn, E. N. , 1945, Wang, Z.,et al., 1999).

L'acqua pesante è stata isolata nel 1933 dall'acqua normale tramite elettrolisi ed è stata poi utilizzata in uno studio come tracciante biologico per stimare la velocità del ricambio idrico nel corpo umano (Lewis G. et al.,1933; Hevesy e Hoffer, 1934). Gli isotopi più frequentemente utilizzati come marcatori dell'acqua sono il deuterio (D), trizio e ossigeno-18 (O<sub>18</sub>). Per lo scambio protonico con i composti organici nel corpo, l'O<sub>18</sub> è noto per fornire la migliore valutazione della TBW, sebbene presenta un costo proibitivo. Gli isotopi vengono analizzati mediante "isotopic ratio mass spectrometry (IRMS), una tecnica costosa che richiede molto tempo per l'esecuzione, oltre ad un personale altamente qualificato (Schoeller, D.A.et al.,1980). Trasformata da Fourier in spettroscopia infrarossa (FTIR), consente una più rapida valutazione della concentrazione di deuterio con notevole riduzione dei costi. Questa tecnica permette di

quantificare l'ossido di deuterio nello spettro infrarosso medio misurando l'assorbanza, non solo a 2500 cm<sup>-1</sup>, ma in tutto lo spettro di assorbimento (2650-2400cm<sup>-1</sup>).

La tecnica FTIR è facile da eseguire e permette la determinazione rapida e affidabile della composizione corporea mediante una misurazione del deuterio nel plasma.

L'acqua pesante D<sub>2</sub>O si trova naturalmente mescolata all'acqua normale nella quantità di circa 1 parte su 20 milioni di molecole di acqua normale; si ottiene in genere separandola dall'acqua distillata. Il deuterio e l'O<sup>18</sup> sono due eccellenti traccianti non radioattivi e non tossici se usati a basse dosi. Questo metodo richiede un prelievo di un campione di sangue prima dell'iniezione sottocutanea del tracciante e di un secondo campione 4 o 5 ore dopo. Può essere utilizzato nella pratica per stimare la percentuale di tessuto adiposo nei cani obesi, a condizione che si possa accedere alla spettrofotometria di massa, che può analizzare i risultati ottenuti.

### ***Ecografia***

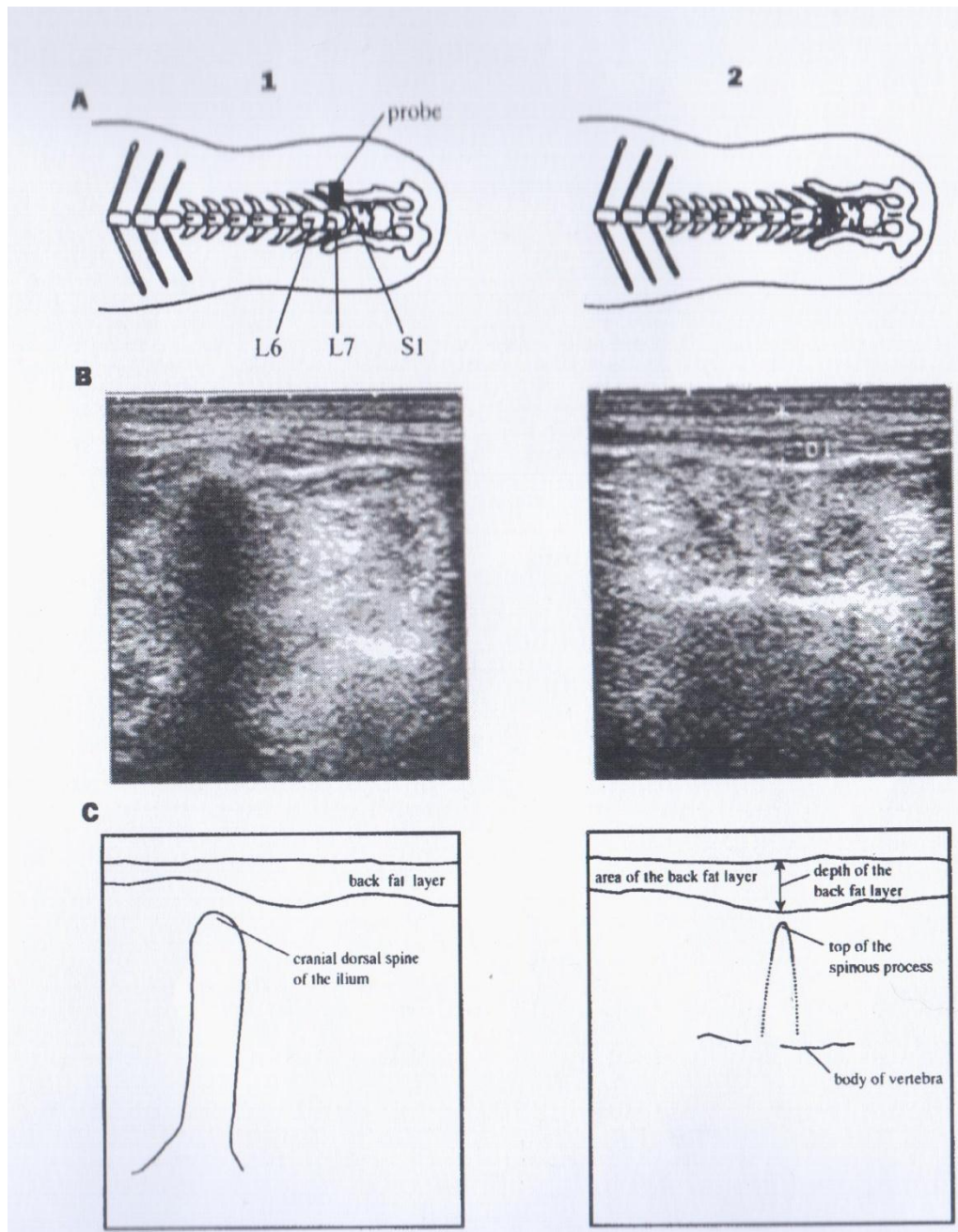
Tra i vari metodi di misurazione l'ecografia dello strato sottocutaneo è una pratica non invasiva, relativamente semplice da eseguire, volta a determinare lo spessore di grasso presente.

Associare questa tecnica diagnostica ad altri metodi può essere utile per definire i principali depositi adiposi e comprendere i meccanismi che sono alla base dell'obesità (T. Morookma et al., 2001). In diversi studi eseguiti su cani è stato riportato che le misurazioni dello spessore del grasso sottocutaneo, a livello della regione lombare,

(tratto L6- S1) può essere uno step necessario per calcolare la quantità di grasso corporeo totale, in quanto è ben risaputo che prevalentemente in questa zona si accumula il grasso in eccesso (Wilkinson e McEwan, 1991; T. Morookma et al., 2001). Le epifisi dei processi spinosi delle vertebre sono stati utilizzati i come punti-guida per i rilievi delle misurazioni. La profondità dello strato di adipe è stata ottenuta contrassegnando i due punti (linea superiore e la linea inferiore dello strato di grasso sottocutaneo) sull'immagine. (Fig. 11) Pertanto tali punti di repere risultano più affidabili e consentono di ottenere risultati riproducibili in entrambi i piani (longitudinale e trasversale). A livello della spalla, la misurazione del grasso sottocutaneo è invece risultata più complicata sia sul piano longitudinale che trasversale, a causa della presenza di pieghe della pelle e dei cambiamenti nello spessore del grasso sottocutaneo dovuti ai movimenti del collo.

In tutti i cani la profondità e la superficie dello strato adiposo sottocutaneo tendono ad aumentare con l'aumento di peso corporeo. Al fine di ottenere dati attendibili è comunque necessario rasare il pelo, standardizzare la posizione dell'animale e la pressione della sonda ecografica ed utilizzare i punti di repere precedentemente riportati. La misurazione della profondità e dello spessore del grasso sottocutaneo a livello di L6 - S1 sul piano trasversale sono considerati un indicatore clinicamente affidabile del grado di deposizione di grasso nei cani beagle (Fig.11).

Va comunque ribadito che tale metodica risulta più utile se utilizzata unitamente ad altre (T. Morookma et al., 2001).



**Fig.11.** Approccio a L7. La sonda viene inizialmente posizionata sulla prominenza dorsale craniale dell'ileo (1), e poi spostata in proiezione longitudinale sulla colonna vertebrale, a livello di L7 (2).

A. Posizione della sonda

B. Immagini Ecografiche

C. Rappresentazione schematica del disegno ecografico

## **PARTE SPERIMENTALE**

## ***Materiali e Metodi***



### *Animali arruolati*

Per la realizzazione del nostro studio nell'arco degli ultimi 2 anni sono stati valutati 175 animali da cui sono stati selezionati 19 cani normopeso (Gruppo Np) e 21 cani obesi (Gruppo Ob), di diverse razze, di ambo i sessi e con un età compresa tra i 2 e i 12 anni, condotti a visita presso l'Ospedale Didattico del Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali dell'Università degli Studi di Napoli Federico II.

Lo stato nutrizionale dei soggetti veniva valutato utilizzando il sistema semiquantitativo rappresentato dal Body Condition Score - BCS a 9 punti (Laflamme, 1997) effettuato sempre da uno stesso operatore. Nel gruppo dei cani obesi (Gruppo Ob) venivano inclusi unicamente animali con punteggio di 8-9. Tutti i cani venivano pesati con valori espressi in kg. Criteri di esclusione erano rappresentati dalla presenza di insufficienza renale cronica e di endocrinopatie (diabete mellito, sindrome di Cushing, ipotiroidismo), preventivamente valutate attraverso analisi di laboratorio ed opportuni test ormonali. Un

ulteriore criterio di esclusione era rappresentato dalla gravidanza o dalla lattazione.

I proprietari dei cani aderivano spontaneamente allo studio attraverso la firma di un modulo di consenso informato. Inoltre, il protocollo di studio veniva preventivamente approvato dalla Commissione Etica del Dipartimento.

### ***Informazioni nutrizionali***

A tutti i proprietari veniva chiesto di rispondere ad un questionario sulla dieta del proprio cane. In particolare sono state ottenute informazioni sul tipo di dieta, commerciale o casalinga, sul numero di pasti giornalieri, sull'eventuale somministrazione di cibo al di fuori del pasto e, infine, sulla presenza di allergie o intolleranze alimentari.

### ***Esame Clinico***

Tutti gli animali del presente studio sono stati sottoposti ad un'attenta analisi clinica con particolare riferimento agli apparati cardiocircolatorio e respiratorio, al fine di escludere patologie cardiache o bronco-polmonari. In particolare negli animali è stato eseguito un ECG standard a 6 derivazioni (I-II-III, aVR, aVL, aVF), utilizzando un elettrocardiografo portatile (08 SD, BTL ITALIA). Inoltre, veniva misurata la pressione arteriosa sistemica (diastolica - PAD, sistolica - PAS e media - PAM) attraverso il metodo oscillometrico utilizzando un apparecchio automatico (VETHDO, S+B Medie Systeme) Si ottenevano 5 misurazioni pressorie e dopo

avere scartato i valori estremi, si procedeva ad effettuare la media sulle tre rimanenti. È stato altresì condotto un esame ecocardiografico completo con l'animale posto in decubito laterale su apposito un tavolo da ecocardiografia provvisto di incavo laterale. In formato M-mode venivano ottenute:

- misurazioni lineari del ventricolo sn:
  - *Diametro interno del ventricolo sn in diastole (LVDd) (mm)*
  - *Diametro interno del ventricolo sn in sistole (LVDs) (mm)*
  - *Spessore del setto interventricolare in diastole (IVSd) (mm)*
  - *Spessore del setto interventricolare in sistole (IVSs) (mm)*
  - *Spessore della parete libera posteriore in diastole (LVPWd) (mm)*
  - *Spessore della parete libera posteriore in sistole (LVPWs) (mm)*
- Parametri di funzionalità sistolica e di sovraccarico del ventricolo sn:
  - *Frazione di accorciamento (SF) (%)*
  - *Frazione di eiezione (EF) (%)*
  - *Indice di volume telesistolico (ESV-I)(ml/m<sup>2</sup>)*
  - *Indice di volume telediastolico (EDV-I) (ml/m<sup>2</sup>)*

In formato B-mode veniva calcolato il rapporto tra le misurazioni lineari dell'atrio sn e dell'aorta (LA/AO) nella scansione parasternale dx in asse corto alla base cardiaca.

Attraverso la metodica eco-doppler (PW e CW) venivano misurati i seguenti parametri:

- *Velocità di picco della polmonare con relativo gradiente pressorio (AO Vmax) (m/sec)*
- *Velocità di picco dell'aorta con relativo gradiente pressorio (PA Vmax) (m/sec)*
- *Velocità dell'onda A del flusso transmitralico (A) (cm/sec)*

➤ *Velocità dell'onda E del flusso transmitralico (E) (cm/sec)*

Infine, veniva valutato il pattern di flusso transmitralico attraverso il rapporto tra la velocità dell'onda E e dell'onda A ( $E/A$ ).

Le misurazioni lineari monodimensionali, al fine di eliminare l'influenza legata al differente peso degli animali, sono state indicizzate secondo l'equazione allometrica di Cornell (Cornell et al., 2004).

Tutti i parametri ecocardiografici sono stati calcolati da un unico operatore ed espressi come media di tre valori ottenuti su cicli cardiaci differenti.

### ***Parametri Metabolici***

Negli animali arruolati è stato eseguito un esame emocromocitometrico completo, nonché un *panel* ematochimico comprendente il dosaggio di glucosio, creatinina, BUN, trigliceridi totali, colesterolo totale, ALT, AST, ALP, LDH, bilirubina totale, albumina, sodio e potassio. Le analisi, condotte mediante spettrofotometro (Spotchem, MENARINI), sono state effettuate su siero conservato a  $-20^{\circ}\text{C}$  previa centrifugazione dei campioni ematici. Su campioni di urina, anch'essi conservati a  $-20^{\circ}\text{C}$ , si procedeva alla determinazione del rapporto proteine/creatinina ( $Pu/Cu$ ).

Infine veniva eseguito un esame emogas immediatamente dopo il prelievo di sangue venoso per la determinazione dei seguenti parametri metabolici: pH, pressione parziale di  $\text{CO}_2$ , pressione

parziale di O<sub>2</sub> (PO<sub>2</sub>), eccesso di basi (Becf), riserva alcalina (HCO<sub>3</sub>), anidride carbonica totale (TCO<sub>2</sub>), saturazione di O<sub>2</sub> (sO<sub>2</sub>).

### ***Pattern citochinico***

In entrambi i gruppi sono stati valutati mediante metodica ELISA i livelli ematici di TNF- alfa, IL-6, Leptina e Adiponectina. Il dosaggio è stato ottenuto su siero di sangue conservato fino al momento del test a - 20°C. Sono stati utilizzati kit commerciali specie-specifici sia per il TNF-alfa e l'IL-6 (R&D Systems, USA) che per la leptina e l'adiponectina (Millipore, USA). I valori del TNF-alfa e dell'IL-6 venivano espressi in pg/mL, mentre quelli della leptina e dell'adiponectina in ng/mL in base alle curve standard ottenute. Tutti i campioni venivano saggiati in doppio.

### ***Misurazioni morfometriche***

In tutti i soggetti sono state ottenute con un metro flessibile le seguenti misurazioni morfometriche lineari espresse in cm:

- *altezza al garrese*
- *altezza alla croce*
- *distanza naso-coda*
- *circonferenza del collo*
- *circonferenza del torace*
- *circonferenza della coda*
- *larghezza groppa*
- *larghezza torace*

Inoltre, con un cutimetro veniva misurato lo spessore delle pliche cutanee interscapolare, addominale e lombosacrale

### ***Esame ecografico e radiografico***

Tutti i cani venivano sottoposti a misurazione ecografica in scansione trasversale del pannicolo adiposo sovrastante i processi spinosi della 6° vertebra lombare, della 7° vertebra lombare e della 1° vertebra sacrale, utilizzando come punto di repere le ali dell'ileo secondo la metodica descritta da Morooka et al., 2001. Veniva utilizzata per lo scopo una sonda lineare a banda larga e con alta frequenza (9-12Mhz) (Logiq 400, GE). Tutte le misurazioni ultrasonografiche sono state effettuate da un unico operatore ed espresse come media di tre valori ottenuti. Successivamente sono state ottenute da tutti i soggetti radiografie in decubito della regione lombo-sacrale mediante un apparecchio radiologico digitale (Drystar Axys, AGFA). Lo spessore del pannicolo adiposo in corrispondenza del processo spinoso della 7° vertebra lombare veniva misurato mediante un software di elaborazione dedicato alla radiologia digitale (Merlino, REM). Anche le misurazioni radiografiche sono state effettuate da un unico operatore ed espresse come media di tre valori ottenuti.

### ***Esame Impedenziometrico***

In tutti gli animali è stato eseguito un esame impedenziometrico con un apparecchio (Handy 3000, ASTEL) utilizzato per la stima dell'impedenza elettrica ( $z$ ) e l'angolo di fase ( $\phi$ ) dell'intero corpo attraversato da una corrente elettrica alternata di tipo sinusoidale a frequenza prefissata (Fig.A). L'esame veniva condotto con gli animali

posizionati in stazione quadrupedale su di un tappetino isolante, evitando ogni contatto con l'operatore. Le misure venivano ottenute applicando all'animale 2 elettrodi iniettori di colore rosso (identificati dalle lettere A e B) e 2 elettrodi sensori di colore nero (identificati dai numeri 1 e 6). Gli elettrodi venivano incrociati in modo tale da ottenere per ciascun animale 8 "derivazioni" secondo il seguente schema:

- 1 a) *BIPEDE SINISTRO (ALTO): Anteriore sx (gomito- metacarpo) -  
Posteriore sx (ginocchio-metatarso)*
- 2 a) *BIPEDE DESTRO(ALTO): Anteriore dx (gomito- metacarpo) -  
Posteriore dx (ginocchio-metatarso)*
- 3 a) *DIAGONALE SINISTRO(ALTO) Anteriore sx (gomito-metacarpo) -  
Posteriore dx (ginocchio-metatarso)*
- 4 a) *DIAGONALE DESTRO (ALTO)Anteriore dx (gomito-metacarpo) -  
Posteriore sx (ginocchio-metatarso)*
- 1 b) *BIPEDE SINISTRO(BASSO) Anteriore sx (carpo-metacarpo) -  
Posteriore sx (tarso-metatarso)*
- 2 b) *BIPEDE DESTRO (BASSO)Anteriore dx (carpo-metacarpo) -  
Posteriore sx (tarso-metatarso)*
- 3 b) *BIPEDE SINISTRO (BASSO) Anteriore sx (carpo-metacarpo) -  
Posteriore dx (tarso-metatarso)*

- 4 b) *BIPEDE SINISTRO (BASSO) Anteriore dx (carpo-metacarpo) -  
Posteriore sx tarso-metatarso*



**Fig. A.** Impedenziometro Handy 3000 (ASTEL)

Lo strumento forniva le misure dell'impedenza elettrica, dell'angolo di fase ( $\varphi$ ), della resistenza (R) e della reattanza ( $X_c$ ) per valori di corrente alternata di 50 e 100 Hz. Un unico operatore effettuava tre misurazioni consecutive, ottenendone successivamente una media. I risultati erano espressi in Ohm.

### ***Analisi statistica***

I dati ottenuti sono stati analizzati preventivamente con il test di Shapiro-Wilk per verificare la loro distribuzione normale.



Successivamente il Gruppo Ob ed il Gruppo Np venivano confrontati utilizzando il test di Levene di uguaglianza delle varianze e il test  $t$  per il confronto tra medie. Venivano considerati significativi valori di  $p < 0.01$  e  $< 0.05$ . I risultati erano espressi come media  $\pm$  deviazione standard (SD).

## ***Risultati***

Nella Tabella n. 10 sono riportati le diverse razze e il sesso dei due gruppi arruolati. Nel Gruppo Ob rientravano n.1 Bassotto Tedesco, n.1 Cocker Spaniel e n.19 meticci, mentre il gruppo N risultava costituito da n. 2 Pitbull, n. 1 Cocker Spaniel, n. 1 Bouledogue, n. 1 Yorkshire Terrier, n. 1 Whippet e n. 13 meticci. Nel Gruppo Ob risultavano 3 maschi interi, 2 maschi sterilizzati e 16 femmine, di cui 15 sterilizzate, mentre nel gruppo N vi erano 6 maschi interi e 13 femmine di cui 9 sterilizzate. L'età media degli animali del Gruppo Ob era di  $8.0 \pm 2.5$  anni, mentre nel Gruppo Np era di  $6.9 \pm 4.0$  anni. I due gruppi, chiaramente, differivano statisticamente per il peso (Gruppo Ob:  $20.2 \pm 10.6$ ; Gruppo Np:  $13.2 \pm 6.4$ ;  $p < 0.05$ ).

		<b>Ob</b>	<b>Np</b>
<b>RAZZA</b>	Bassotto tedesco	1	/
	Cocker spaniel	1	1
	Pitt bull	/	2
	Boule dogue	/	1
	Yorkshire terrier	/	1
	Whippet	/	1
	Meticcio	19	13
<b>SESSO</b>	F	1	4
	FS	15	9
	M	3	6
	MC	2	/

**Tabella 10.** Segnalamento dei soggetti obesi e normopeso; F=Femmina; FS=Femmina sterilizzata; M: Maschio; MC: Maschio castrato

Per quanto riguarda le informazioni nutrizionali, nel Gruppo Ob 19 cani su 21 ricevevano una dieta mista (casalinga + commerciale), mentre soltanto 2 ricevevano una dieta unicamente commerciale; 17/21 ricevevano cibo extrapasto. Nel Gruppo Np 5 cani su 19 ricevevano una dieta mista, 13 ricevevano una dieta commerciale ed uno solo una dieta casalinga; 13/19 ricevevano cibo extrapasto. Il numero dei pasti giornalieri nel Gruppo Ob era così distribuito: n. 9 : 1 pasto/die, n. 10: 2 pasti /die, n. 2: 3 pasti/ die, mentre nel Gruppo Np era così distribuito: n. 4 : 1 pasto/die, n. 13: 2 pasti /die, n. 2: 3 pasti/die.

In tutti gli animali l'esame diretto dell'apparato cardiocircolatorio e dell'apparato respiratorio risultava nella norma.

Nel Gruppo Ob l'esame ECG standard evidenziava in 19 animali la presenza di aritmia respiratoria (AR), in 20 la presenza di wandering pacemaker (WP) e in 1 soltanto la presenza di tachicardia sinusale. In 2 animali obesi su 21 erano presenti segni elettrocardiografici riferibili ad impegno del ventricolo sn, mentre in 1 su 21 si evidenziava impegno dell'atrio dx. In 3 cani obesi erano presenti segni di ipossia miocardica (sottoslivellamento del tratto ST, onde T di voltaggio aumentato), mentre in nessuno di essi si osservava la presenza di aritmie maligne. Nel Gruppo Np l'esame ECG standard evidenziava in tutti gli animali la presenza di AR, WP e in 1 soltanto era presente bradicardia sinusale vago indotta. Tutti i soggetti, sia del Gruppo Ob che del Gruppo Np, mostravano asse elettrico medio nel quadrante (AEM; compreso tra  $+40^\circ$  e  $+100^\circ$  sul piano frontale). I due gruppi non differivano statisticamente per il valore della frequenza cardiaca media (FCM) (Gruppo Ob:  $129.6 \pm 23.1$ ; Gruppo Np:  $126.5 \pm 22.5$ ).

Per quanto riguarda le misurazione pressorie, sebbene i valori della PAD, della PAS e della PAM fossero più elevati nei cani obesi (PAD:  $89.7 \pm 16.7$ ; PAS:  $160.6 \pm 26.8$ ; PAM:  $110.5 \pm 24.1$ ) rispetto a quelli del gruppo di controllo (PAD:  $80.4 \pm 18.6$ ; PAS:  $144.5 \pm 24.9$ ; PAM:  $103.1 \pm 22.8$ ), la differenza non risultava significativa dal punto di vista statistico.

Per quanto attiene l'esame ecografico bidimensionale, nel gruppo Ob, 1 cane su 21 mostrava dilatazione dell'atrio sn, 2 su 21 dilatazione dell'atrio dx ed 1 soltanto dilatazione del ventricolo dx. In 5 si evidenziava moderata fibrosi del miocardio ventricolare, mentre in 1 soltanto si visualizzavano lievi modificazioni dei lembi della valvola mitrale, riferibili ad una incipiente malattia degenerativa valvolare.

Nei cani normopeso di controllo non si osservavano modificazioni ecografiche, tranne in 1 animale di età più avanzata che presentava una moderata fibrosi sub-endocardica a carico del ventricolo sn. Il valore del rapporto LA/AO valutato in B-mode non appariva significativamente differire tra i 2 gruppi.

L'esame eco-doppler evidenziava in un solo animale obeso un pattern di flusso trans-mitralico da alterato rilassamento ventricolare; in 4 cani obesi era presente rigurgito mitralico ed in 1 soltanto rigurgito tricuspideale, sebbene si trattasse di insufficienze valvolari di grado lieve ed emodinamicamente trascurabili. In nessun cane del Gruppo Ob si riscontravano segni eco-doppler riferibili ad ipertensione arteriosa polmonare. Nel gruppo Np l'esame eco-doppler non mostrava alterazioni emodinamiche o funzionali. I valori medi della velocità di flusso attraverso l'aorta e la polmonare, con relativo gradiente pressorio (PGmax), erano più elevati nei cani obesi (AO Vmax:  $127.3 \pm 28.4$ ; AO-PGmax:  $6.7 \pm 3.1$ ; PA:  $105.6 \pm 22.7$ ; PA-PGmax:  $4.6 \pm 2.1$ ) rispetto a quelli normopeso (AO Vmax:  $109.7 \pm 20.7$ ; AO-PGmax:  $4.9 \pm 1.9$ ; PA:  $86.7 \pm 15.1$ ; PA-PGmax:  $3.0 \pm 1.0$ ), con significatività statistica rispettivamente per valori di  $p < 0.05$  e  $< 0.01$ . Il confronto statistico delle misure lineari indicizzate secondo Cornell, e dei parametri di funzionalità del ventricolo sn, calcolati in monodimensionale appariva significativo soltanto per il diametro interno ventricolare che nei soggetti obesi mostrava dimensioni inferiori ( $0.78 \pm 0.1$  vs  $0.86 \pm 0.1$ ). (Tab. 11)

	Ob media±DS	Np media±DS
PAS (mmHg)	160,66±26,87	144,57±24,99
PAD (mmHg)	89,71±16,75	80,42±18,61
PAM (mmHg)	110,52±24,19	103,10±22,85
AO (mm)	19,18±3,71*	16,74±2,67
LA (mm)	25,40±5,44	22,35±3,91
LA/AO (mm)	1,34±0,14	1,33±0,13
LVIDd-I (mm)	1,36±0,13	1,44±0,17
LVIDs-I (mm)	0,78±0,10*	0,86±0,12
IVSd-I (mm)	0,40±0,08	0,42±0,09
IVSs-I (mm)	0,64±0,12	0,66±0,11
LVPWd-I (mm)	0,41±0,05	0,44±0,08
LVPWs-I (mm)	0,63±0,07	0,63±0,08
SF (%)	39,00±7,38	37,22±4,93
EF (%)	70,37±9,74	68,39±6,45
EDV-I (ml/ m <sup>2</sup> )	59,97±14,36	64,55±15,87
ESV-I (ml/ m <sup>2</sup> )	17,64±6,10	21,77±7,56
AO-Vmax (m/ sec)	127,30±28,44*	109,78±20,73
AO-PGmax (m/ sec)	6,79±3,19*	4,94±1,98
PA-Vmax (m/ sec)	105,64±22,76**	86,72±15,16
PA-PGmax (m/ sec)	4,65±2,12**	3,05±1,05
Onda E (cm/ sec)	65,69±10,30	68,10±12,42
Onda A (cm/ sec)	64,14±9,03	63,32±10,35
E/A (cm/ sec)	1,03±0,16	1,07±0,12

**Tab 11.** Misurazioni Ecocardiografiche medie ± DS di obesi (Ob) e controlli (Np)

Nell'ambito dei parametri metabolici i soggetti obesi mostravano livelli ematici di colesterolo totale (CT) ( $288.1 \pm 9.6$ ;  $p < 0.01$ ) e di

trigliceridi totali (TG) ( $142.5 \pm 63.9$ ;  $p < 0.01$ ) significativamente più elevati rispetto agli animali normopeso (CT:  $198.1 \pm 5.4$ ; TG:  $71.7 \pm 51.0$ ). Analogamente i cani del gruppo Ob mostravano valori più elevati, nonché statisticamente significativi ( $p < 0.05$ ), delle alfa-1 globuline ( $0.41 \pm 0.05$  vs  $0.35 \pm 0.07$ ;  $p < 0.01$ ), delle alfa-2 globuline ( $1.52 \pm 0.31$  vs  $1.23 \pm 0.26$ ;  $p < 0.01$ ), della LDH ( $271.5 \pm 118.1$  vs  $163.6 \pm 43.4$ ;  $p < 0.01$ ), della ALP ( $403.1 \pm 563.2$  vs  $100.0 \pm 118.5$ ;  $p < 0.05$ ) e del pH ematico ( $7.4 \pm 0.7$  vs  $7.3 \pm 0.5$ ) (Tab. 3). (Tabella 12)



Analita	Gruppo Ob media±DS	Gruppo Np media±DS
GLU (mg/ dl)	84,57±7,18	82,63±10,43
BUN (mg/ dl)	16,38±9,68	18,11±5,45
CREA (mg/ dl)	12,76±2,53	1,26±0,24
LDH (IU/ L)	271,57±118,16**	163,68±43,47
CHOL( mg/ dl)	288,14±114,55**	198,21±55,12
TG (mg/ dl)	142,52±63,99**	71,74±51,01
GPT (IU/ L)	40,66±16,26	39,58±17,23
GOT (IU/ L)	29,86±18,77	25,26±13,69
ALP (IU/ L)	196,57±166,46*	89,26±61,74
Bil (mg/ dl)	0,63±0,27	0,51±0,94
PT( mg/ dl)	7,60±0,97	7,27±1,14
Alb (g/dl)	3,25±0,42	3,51±0,50
α1 (g/ %)	0,41±0,05**	0,35±0,07
α2 (g/ %)	1,52±0,31**	1,23±0,26
β1( g/ %)	0,68±0,20	0,64±0,20
β2 (g/ %)	0,87±0,13	0,86±0,33
γ (g/ %)	0,79±0,29	0,67±0,16
Pu/Cu (mg/ dl)	0,74±0,62	0,51±0,22
pH ( -log [H <sup>+</sup> ])	7,40±0,07**	7,34±0,05
PCO2 (mmHg)	36,63±9,89	39,81±5,24
PO2 (mmHg)	42,67±12,63	37,26±6,69
HCO3 ( mmol/L)	22,76±5,09	22,98±2,12
Becf (mmol/L)	-2,33±4,62	-2,36±2,19
TCO2 mmol/L	23,76±5,37	24,16±2,24
sO2 ( %)	74,19±11,30	67,63±11,33
Na( mmol/L)	144,52±4,33	145,74±2,31
K (mmol/L)	3,89±0,95	4,16±0,34
Ca-i (mmol/L)	1,33±0,06	1,34±0,07
RBC (K/ UL)	6,83±0,85	6,75±0,37
HGB (g/ dl)	15,58±2,39	15,48±2,29
MCV ( fl)	44,60±5,33	46,94±3,12
HCT ( %)	46,29±6,63	45,42±6,58
MCH ( pg)	24,63±4,34	29,34±7,56
MCHC (g/ dl)	35,34±9,36	42,25±11,87
WBC (K/ UL)	10538,10±2926,68	10173,68±3344,46
PLT (K/ UL)	312,90±184,93	346,21±133,21

\*=p<0,05; \*\* =p<0,01

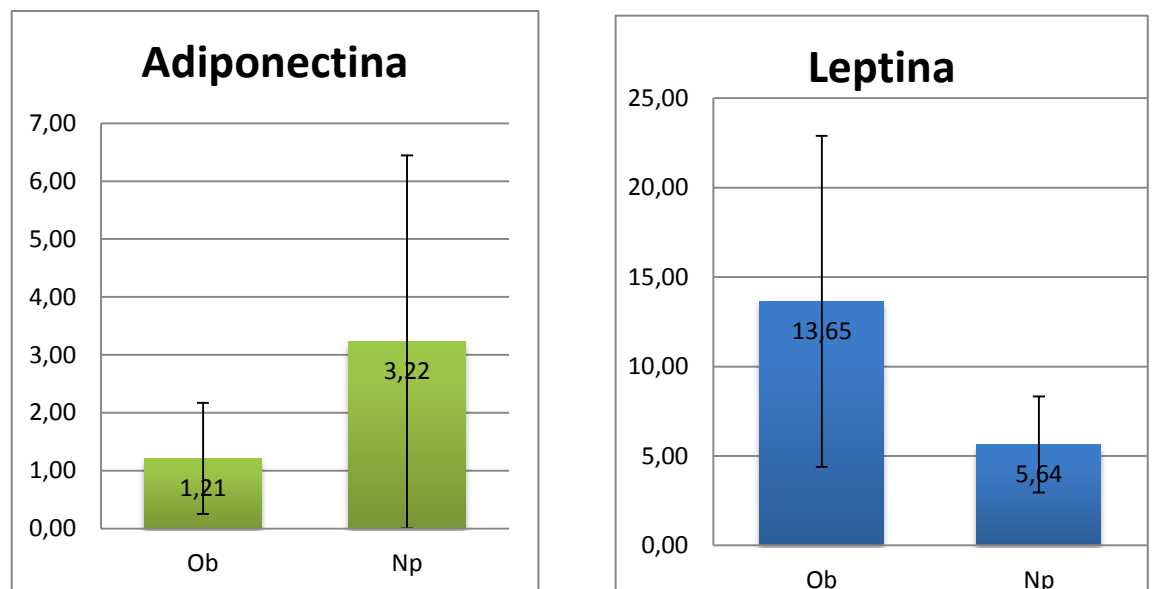
**Tab 12.** Media ± DS dei parametri sierici e di Pu/ Cu in obesi (Ob) e controlli (Np)

I due gruppi non mostravano differenze nei dosaggi della IL-6 e del TNF- alfa, mentre la leptina appariva significativamente più alta negli obesi ( $13.6 \pm 9.3$  vs  $5.7 \pm 2.7$ ;  $p < 0.01$ ); al contrario l'adiponectina era significativamente maggiore nel Gruppo Np ( $1.21 \pm 0.9$  vs  $3.22 \pm 3.2$ ;  $p < 0.05$ ) (Tab.13; Graf.1).

Analita	Ob media $\pm$ DS	Np media $\pm$ DS
Interleuchina- 6	$0,079 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,12$
TNF- alfa	$0,011 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,01$
Adiponectina	$1,21 \pm 0,96^*$	$3,22 \pm 3,02^*$
Leptina	$13,65 \pm 9,25^{**}$	$5,64 \pm 2,68^{**}$

\*= $p < 0,05$ ; \*\* = $p < 0,01$

**Tab 13.** Valutazione della Leptina e dell'Adiponectina sierica , IL- 6 e TNF- alfa in Obesi (ob) e controlli (Np)



**Grafico 1.** Concentrazione sierica di Leptina e Adiponectina in obesi (Ob) e controlli (Np). (  $P \leq 0,01$ ).

\*= $p < 0,05$ ; \*\* = $p < 0,01$

Sebbene i valori relativi alla misurazione del pannicolo adiposo lombo-sacrale eseguito con metodica ultrasonografica fossero più elevati nei cani obesi (Eco-L6:  $1.8 \pm 1.0$ ; Eco L-7:  $1.9 \pm 1.0$ ; Eco-S1:  $2.0 \pm 1.0$ ) rispetto a quelli del gruppo di controllo (Eco-L6:  $1.7 \pm 0.6$ ; Eco-L7:  $1.8 \pm 0.5$ ; Eco- S1:  $1.9 \pm 0.3$ ), la differenza non risultava significativa dal punto di vista statistico; al contrario, le misurazioni eseguite in radiografia digitale differivano significativamente (RX-L6:  $3.5 \pm 1.6$  vs  $2.2 \pm 1.1$  -  $p < 0.05$ ; RX-L7:  $4.1 \pm 1.9$  vs  $2.7 \pm 1.0$  -  $p < 0.01$ ; RX-S1:  $3.9 \pm 2.1$  vs  $2.5 \pm 1.2$  -  $p < 0.05$ ) tra i due gruppi (Tab. 14).

	Ob media $\pm$ DS	Np media $\pm$ DS
Eco-L6	18,01 $\pm$ 10,01	18,21 $\pm$ 6,46
Eco-L7	19,60 $\pm$ 10,91	18,07 $\pm$ 5,60
Eco-S1	20,55 $\pm$ 10,63	19,05 $\pm$ 3,72
RX-L6	3,53 $\pm$ 1,70*	2,30 $\pm$ 1,12
RX-L7	4,14 $\pm$ 1,93**	2,70 $\pm$ 1,07
RX-S1	3,85 $\pm$ 2,21*	2,52 $\pm$ 1,23

\*= $p < 0,05$ ; \*\*= $p < 0,01$

**Tab.14.** Media  $\pm$  DS delle misure radiografiche ed ecografiche dei soggetti obesi (Ob) e dei controlli (Np) espressi in millimetri.

Per quanto riguarda l'esame impedenziometrico, i cani del Gruppo Ob mostravano valori significativamente differenti della resistenza (R) nella derivazione del bipede sn alto, indicata come 1a, e dell'angolo di fase nella derivazione del bipede sn basso, indicato come 3b, sia per corrente alternata a 50 Hz che per quella a 100 Hz, rispetto ai soggetti del gruppo Np (3b-50 Hz:  $11.2 \pm 6.4$  vs  $7.2 \pm 4.7$ ; 3b-100Hz:  $11.5 \pm 7.7$  vs  $5.9 \pm 5.4$ ; 1a-50Hz:  $72.0 \pm 191.3$  vs  $185.5 \pm 100.7$ ; 1a-100Hz:  $69.8 \pm 160.1$  vs  $167.9 \pm 98.3$ ;  $p < 0.05$ ) (Tab. 6a).

	<b>Ob</b> media±DS	<b>Np</b> media±DS
1a_50_Z	168,38±116,50	177,50±105,00
1a_50_φ	26,74±49,70	8,84±7,81
1a_100_Z	153,95±99,06	162,29±104,27
1a_100_φ	25,14±48,58	6,05±11,68
1a_50_R	72,06±191,34*	175,20±105,34
1a_50_Xc	27,68±20,86	25,08±11,54
1a_100_R	69,85±160,14*	158,28±102,25
1a_100Xc	41,86±45,71	30,14±28,85
2a_50_Z	163,11±77,74	164,42±108,55
2a_50_φ	9,28±7,48	11,80±17,53
2a_100_Z	151,18±80,46	154,55±129,91
2a_100_φ	16,99±37,81	12,39±23,92
2a_50_R	161,96±80,09	158,18±80,46
2a_50_Xc	23,16±12,03	31,68±48,17
2a_100_R	121,48±118,34	149,84±107,65
2a_100Xc	24,50±18,30	38,02±79,26
3a_50_Z	173,24±88,54	176,51±102,40
3a_50_φ	11,00±9,71	8,32±10,27
3a_100_Z	159,66±97,03	164,69±116,22
3a_100_φ	12,17±14,41	5,37±13,63
3a_50_R	169,81±88,76	172,05±99,24
3a_50_Xc	29,88±15,96	29,04±34,38
3a_100_R	155,09±96,73	157,22±101,33
3a_100Xc	30,25±23,66	36,46±65,88
4a_50_Z	134,46±110,34	342,99±538,58
4a_50_φ	17,26±27,99	11,11±13,09
4a_100_Z	156,48±91,83	321,14±538,20
4a_100_φ	16,24±31,63	8,32±15,84
4a_50_R	135,30±89,65	335,74±541,05
4a_50_Xc	32,76±50,29	33,97±24,16
4a_100_R	135,86±70,43	318,93±544,13
4a_100Xc	40,05±90,14	37,85±38,79
1b_50_Z	855,43±314,97	898,11±432,64
1b_50_φ	9,96±7,95	9,83±7,27
1b_100_Z	782,29±296,05	836,21±417,53
1b_100_φ	19,06±37,21	10,08±9,34
1b_50_R	839,76±321,69	887,05±439,00
1b_50_Xc	121,94±83,51	117,77±50,46
1b_100_R	651,05±508,44	824,68±422,73
1b_100Xc	121,89±83,51	111,45±53,47
2b_50_Z	970,76±488,18	892,84±467,31
2b_50_φ	18,17±36,88	8,19±7,72
2b_100_Z	938,19±541,05	812,63±455,32

	<b>Ob</b> media±DS	<b>Np</b> media±DS
<b>2b_100_φ</b>	26,00±49,43	7,78±10,32
<b>2b_50_R</b>	771,00±763,24	882,42±469,57
<b>2b_50_Xc</b>	136,29±73,12	117,47±54,60
<b>2b_100_R</b>	565,33±925,85	800,63±457,99
<b>2b_100Xc</b>	131,50±75,95	119,25±53,24
<b>3b_50_Z</b>	895,14±391,79	921,89±392,68
<b>3b_50_φ</b>	11,25±6,44*	7,95±5,30
<b>3b_100_Z</b>	837,90±379,49	869,05±369,53
<b>3b_100_φ</b>	11,59±7,70*	6,36±5,65
<b>3b_50_R</b>	878,10±395,70	913,05±395,09
<b>3b_50_Xc</b>	150,51±70,58	112,29±46,56
<b>3b_100_R</b>	830,52±408,90	858,42±370,20
<b>3b_100Xc</b>	142,15±81,35	108,93±54,71
<b>4b_50_Z</b>	921,71±454,65	937,95±429,58
<b>4b_50_φ</b>	8,81±5,79	8,21±4,90
<b>4b_100_Z</b>	886,52±473,74	882,21±409,72
<b>4b_100_φ</b>	16,91±36,85	14,99±34,09
<b>4b_50_R</b>	911,38±458,43	928,58±429,74
<b>4b_50_Xc</b>	105,56±58,52	116,08±67,92
<b>4b_100_R</b>	762,19±650,88	873,63±408,87
<b>4b_100Xc</b>	108,94±59,72	108,26±67,68

\*=p<0,05;

**Tab 15.** Media ± DS delle misurazioni impedenziometriche di obesi (Ob) e controlli (Np)

Diverse misure morfometriche assumevano valori notevolmente superiori nei cani obesi: 1) circonferenza collo ( $37.3 \pm 7.3$  vs  $32.5 \pm 5.8$ ;  $p < 0.05$ ); 2) circonferenza torace ( $63.6 \pm 13.6$  vs  $54.8 \pm 10.5$ ;  $p < 0.05$ ); 3) circonferenza addome ( $58.4 \pm 12.4$  vs  $45.1 \pm 8.7$ ;  $p < 0.01$ ); 4) plica interscapolare ( $1.17 \pm 0.3$  vs  $0.8 \pm 0.3$ ;  $p < 0.01$ ); 5) plica ischiatica ( $1.0 \pm 0.3$  vs  $0.6 \pm 0.3$ ;  $p < 0.01$ ); 6) larghezza groppa ( $12.0 \pm 2.4$  vs  $10.2 \pm 2.3$ ;  $p < 0.05$ ); 7) larghezza torace ( $12.9 \pm 2.4$  vs  $11.0 \pm 1.2$ ;  $p < 0.01$ ) (Tab. 15).

## ***Discussioni e Conclusioni***

Nei pazienti umani l'obesità è spesso associata all'insorgenza della cosiddetta Sindrome Metabolica (MetS), caratterizzata da ipertensione arteriosa, dislipidemia, iperglicemia, microalbuminuria e aumento sierico degli enzimi epatici. La MetS è strettamente associata con lo sviluppo di aterosclerosi che è alla base di incidenti cardiovascolari, quali infarto/cardiopatia ischemica ed ictus (Karadag et al., 2009). I nostri risultati concordano con quelli di Martin e colleghi (2006), evidenziando una significativa dislipidemia nei cani obesi. È necessario, però, sottolineare che la specie canina sia naturalmente resistente agli stimoli aterogenici, nonostante abbia spesso abitudini alimentari e condizioni di vita simili a quelle dei proprietari. Questa maggiore “resistenza” in condizioni naturali è verosimilmente da imputare al differente profilo lipidico caratterizzato fisiologicamente da un basso tenore in LDL. Il cane presenta quindi un “vantaggio” metabolico rispetto all'uomo per quanto riguarda l'assetto lipidico del sangue, potendo consumare diete ricche in grassi, con conseguente aumento del colesterolo totale, senza modificazione significativa della frazione delle LDL. Ciò spiega la bassa prevalenza di disturbi



vascolari anche nei soggetti obesi; soltanto in corso di endocrinopatie, quali diabete mellito, sindrome di Cushing ed ipotiroidismo, più o meno associati ad una condizione di obesità, talora possono formarsi lesioni ateromatose vascolari tali da indurre sintomatologia clinica a carico dell'apparato cardiocircolatorio o del sistema nervoso centrale.

In relazione all'assetto glicemico, analogamente a Martin e colleghi (2006) non sono state riscontrate fluttuazioni significative dei valori di glucosio nei cani obesi. Questo reperto induce a pensare che, analogamente all'uomo, una condizione pre-diabetica potrebbe essere indagata attraverso parametri più specifici, quali le fruttosamine e l'emoglobina glicosilata.

Nel presente studio le alfa-1 e alfa-2 globuline sono apparse notevolmente aumentate negli animali obesi. Tale rilievo può essere giustificato con la presenza di uno stato reattivo cronico, analogamente a quanto verificato nei pazienti umani con MetS (González et al., 2012; Hämäläinen et al., 2012).

Il rapporto urinario Pu/Cu non ha mostrato alterazioni nei cani obesi, sebbene non possa essere escluso un danno renale precoce in tali soggetti. Infatti, analogamente all'uomo, una proteinuria precoce e di basso grado associata alla MetS può essere meglio svelata attraverso la determinazione della microalbuminuria. La determinazione di tale parametro appare poco pratica ed indaginosa negli animali, in quanto è necessario effettuarla su un *pool* di urine raccolto nelle 24 ore.

La valutazione cardiovascolare ha messo in evidenza che i valori della PAD, della PAS e della PAM erano più elevati nei cani obesi rispetto a quelli del gruppo di controllo, sebbene non vi fosse significatività

statistica. Il valore medio della pressione sistolica dei cani obesi era di 160 mmHg e quindi vicino al cut-off utilizzato per definire la presenza di ipertensione arteriosa ( $> 180$  mmHg) secondo le linee guida stabilite dall'ACVIM (Brown et al., 2007). Secondo tali linee guida gli animali con tale valore di pressione sistolica presentano un rischio lieve/moderato per lo sviluppo di danno d'organo. Inoltre, considerando i singoli cani obesi 3 di essi presentavano PAS pari al cut-off di 180 mmHg, mentre 2 apparivano nettamente ipertesi. I nostri risultati concordano, in parte, con quelli di Mehlman e colleghi (2013), che hanno rilevato valori significativamente più elevati di PAM in cani obesi rispetto ai normopeso, e dimostrano come un moderato incremento dei valori pressori arteriosi, e quindi del post-carico, possa rappresentare un aspetto costante dell'obesità canina. Nei pazienti umani obesi colpiti da "sindrome metabolica" le modificazioni morfologiche e funzionali del miocardio ventricolare rappresentano una costante. Infatti, essi presentano un grado variabile di ipertrofia concentrica del miocardio ventricolare, quasi sempre in risposta all'incremento del post-carico dovuto ad ipertensione arteriosa, accumulo di lipidi a livello miocardico, aumento del collagene ed ipertrofia dei cardiomiociti (aumento della loro area di sezione trasversale) (Rider et al., 2011). L'esame eco-doppler in tali pazienti evidenzia costantemente un deficit della funzione diastolica, direttamente correlato alla ridotta compliance ventricolare conseguente allo sviluppo di ipertrofia concentrica (Tumuklu et al., 2007). Il rilievo precoce di modificazioni morfologiche all'ecocardiografia, ancor prima dello sviluppo della sindrome metabolica, rappresenta un importante indice di rischio per lo sviluppo

di insufficienza cardiaca nelle diverse popolazioni di persone obese studiate (Gardiu et al., 2001).

Alcuni studi su cani obesi mostrano un incremento della pressione sistolica all'interno dell'atrio sn (Mizelle et al., 1994), sebbene i dati riguardanti gli effetti dell'obesità sul miocardio ventricolare appaiono molto limitati. Il nostro studio non evidenzia ipertrofia ventricolare concentrica all'ecocardiografia nel gruppo Ob dopo avere indicizzato le misurazioni lineari secondo l'equazione allometrica, ed alla luce di ciò il rinvenimento di un diametro interno ventricolare di dimensioni inferiori nei soggetti obesi assume un significato relativo. Al contrario, Mehlman e colleghi (2013) riferiscono di avere rilevato all'ecocardiografia un incremento dello spessore della parete libera del ventricolo sn, sia in diastole che in sistole, in 19 cani obesi. Tale dato appare limitato e non pienamente congruente, in quanto nei pazienti umani con condizione di obesità l'ipertrofia concentrica del ventricolo sn è generalmente simmetrica, cioè coinvolgente anche il setto interventricolare, poiché correlata all'aumento del post-carico. A conferma di ciò, Mehlman e colleghi non hanno rinvenuto all'esame istopatologico del miocardio dei soggetti obesi una significativa differenza nell'accumulo di lipidi, nella quantità di collagene e nell'area della sezione trasversale dei cardiomiociti rispetto ai cani normopeso. I nostri risultati, inoltre, analogamente a quelli di Mehlman e colleghi (2013), non mostrano un'alterazione dei parametri sistolici di funzionalità ventricolare.

Inoltre un solo soggetto mostrava pattern transmitralico da alterato rilassamento ventricolare, mentre non sono state osservate differenze significative nel rapporto onda E/A tra obesi e normopeso. Mehlman e

colleghi (2013) riferiscono di avere rinvenuto nel 47% dei cani obesi una riduzione del tempo di rilasciamento isovolumetrico (IVRT), indicativo di un incremento della pressione di riempimento del ventricolo sn e quindi di disfunzione diastolica. Tale parametro non è stato valutato nel nostro studio, ma appare poco congruente una sua riduzione a fronte di un pattern transmitralico normale ed un rapporto E/A nel range di normalità.

Per quanto riguarda i parametri eco-doppler registrati nel nostro studio, le velocità medie sistoliche in uscita dall'aorta e dalla polmonare, sia pure tutte nel range di normalità, apparivano significativamente più elevate nei cani obesi.

Questo rilievo dimostra, comunque, come nei cani obesi vi sia un moderato incremento del post-carico sia nel grande che nel piccolo circolo, non ancora in grado di causare un rimodellamento del miocardio clinicamente apprezzabile.

Come è noto l'obesità nell'uomo è caratterizzata da una attivazione cronica dei meccanismi infiammatori con innalzamento di diversi marker di flogosi, quali la proteina C reattiva, angiotensinogeno, aptoglobina, TNF- alfa, IL-1, IL-6, IL-18, ecc. Questa attivazione di grado basso, ma persistente, è a sua volta condizionata dalla produzione da parte del tessuto adiposo in eccesso di una grande quantità di adipochine, le quali hanno molteplici funzioni biologiche ed in particolare pro-infiammatorie (Wang et al., 2010). Questo meccanismo rappresenta il *link* patogenetico che collega nell'uomo l'obesità con una serie di patologie, quali trombosi, ipertensione, insufficienza cardiaca, patologie respiratorie croniche, patologie

articolari, patologie neoplastiche e resistenza all'insulina (German et al., 2010). Analogamente all'uomo e ad altri studi condotti nel cane (Jeusette et al., 2005; German et al., 2009), negli animali obesi da noi esaminati i livelli di leptina erano significativamente più elevati, mentre quelli dell'adiponectina, controregolatrice, apparivano significativamente ridotti. Nel nostro modello sperimentale il TNF-alfa e la IL-6 non mostravano variazioni tra gli obesi e i normopeso; ciò potrebbe indicare l'assenza di uno stato reattivo proinfiammatorio in accordo con quanto riportato da Tvarijonaviciute e colleghi (2012) che non hanno evidenziato alcuna modificazione sierica delle proteine della fase acuta (proteina C reattiva, aptoglobina, ceruloplasmina) in cani obesi sottoposti a regime dietetico. Va, altresì, riportato che livelli di TNF-alfa subiscono una significativa riduzione in seguito a terapia dietetica, a differenza dei livelli di IL-6 che non appaiono modificarsi in cani obesi (German et al., 2009).

I dati del presente studio confermano, quindi, come le adipochine, ed in particolare la leptina, possano essere utilizzate per la valutazione del grado di obesità e per un eventuale monitoraggio della terapia dietetica nei cani obesi. Di contro, a differenza dell'uomo, nei cani obesi esaminati non sembra confermata a pieno la presenza di uno stato bioumorale indicativo di una condizione pro-infiammatoria, sebbene l'incremento dei valori delle alfa-proteine osservato potrebbe far ipotizzare un aumento delle proteine della fase acuta.

Per quanto riguarda la misurazione ecografica del pannicolo adiposo nei cani obesi, nonostante la tricotomia, è risultato difficoltoso identificare le ali dell'ileo, indispensabile punto di repere anatomico-clinico per individuare correttamente i processi spinosi delle diverse

vertebre. Al contrario, la radiologia digitale, applicata alla stessa regione d'indagine, ha fornito in tutti i soggetti immagini di ottima qualità, consentendo misurazioni precise e significativamente differenti rispetto ai cani normopeso. I nostri risultati consentono di affermare che la radiologia digitale può rappresentare un metodo oggettivo e ripetibile per stimare il grado di obesità attraverso la misurazione del pannicolo adiposo lombo-sacrale. Tale metodica, meno indaginosa e più economica, rappresenta nella specie canina una valida alternativa alla tomografia assiale computerizzata (TAC) oppure all'assorbimento di raggi X a doppia energia (DEXA) (Ishioka et al., 2005; Jeusette et al., 2010).

Come è noto l'esame impedenziometrico non è standardizzato nella specie canina ed in letteratura i dati disponibili sono molto limitati. (Jeusette et al., 2010). Per tale ragione abbiamo ritenuto opportuno "saggiare" 8 differenti "derivazioni" e diversi parametri di impedenza elettrica. Le uniche due che hanno fornito risultati significativi sono quelle che fanno riferimento al bipede sn alto e basso, indicate rispettivamente come 1a e 3b, per i valori della resistenza (R) e dell'angolo di fase, sia per corrente alternata a 50 Hz che per quella a 100 Hz. I nostri risultati, per quanto incoraggianti devono essere considerati preliminari, poiché appare necessario validare il metodo impedenziometrico su una vasta popolazione canina.

Numerose misure morfometriche sono risultate significativamente differenti nei soggetti obesi. Esse rappresentano uno strumento tradizionale, semplice, economico ed utile nella valutazione della condizione di obesità e soprattutto potrebbero essere impiegate nel monitoraggio della terapia dietetica.

In conclusione, il nostro studio mette in evidenza una modificazione dell'assetto endocrino-metabolico simile a quello riportato in medicina umana soprattutto per quanto attiene i valori delle adipochine, che si sono rilevate degli ottimi indicatori di obesità nella specie canina. Per quanto riguarda il profilo bioumorale il nostro studio non sembra evidenziare un chiaro stato pro-infiammatorio sebbene sia necessario approfondire il reale ruolo dell'infiammazione nel determinismo dell'obesità canina anche attraverso la valutazione di altre citochine e di proteine della fase acuta. Per quanto riguarda, infine, i rilievi cardiovascolari, sebbene sia logico ipotizzare che nel cane, analogamente al paziente umano obeso, si possano sviluppare modificazioni strutturali del miocardio ventricolare, i dati a disposizione sono ancora pochi e discrepanti tra loro. Eventuali *trials* clinici, prospettici e a lungo termine, condotti su un vasto numero di cani obesi, analogamente a quanto effettuato sulla popolazione umana, potranno chiarire in futuro se e quando insorge il danno miocardico.

Infine va precisato che tra le tecniche oggettive di valutazione del grado di infiltrazione lipidica, quella radiologica sembra essere particolarmente vantaggiosa ed in grado di fornire i migliori risultati. È auspicabile che tale metodica diagnostica possa essere affiancata all'impiego dell'impedenziometria i cui risultati incoraggiano l'uso in un campione di animali più rappresentativo.

## **BIBLIOGRAFIA**



- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Sep 1;90(17):7915-22. Review.
- Anderson D.B., Corbin J.E. Estimating body fat in mature Beagle bitches; 1982; *Lab Anim Sci* 32 : 367-70.
- Anker SD, Ponikowski P, Varney S, et al. Wasting as independent risk factor for mortality in chronic heart failure. *Lancet* 1997;349:1050-1053.
- Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J., Hotta, K., Shimomura, I., Nakamura, T., Miyaoka, K., Kuriyama, H., Nishida, M., Yamashita, S., Okubo, K., Matsubara, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., 1999. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* N 257, 79–83.
- Armstrong P.J., Lund E.M. 1996. Changes in body condition and energy balance with aging. *Vet. Clin. Nutr.*, 3: 83 – 87.
- Atkinson RL, Dhurandhar NV, Allison DB, et al. Human adenovirus-36 is associated with increased body weight and paradoxical reduction of serum lipids. *Int J Obes* 2005;29(3):281–6.

- Bailhache E., Ouguerram K., Gayet C. et al. An insulin-resistant hypertriglyceridaemic normotensive obese dog model: assessment of insulin resistance by the euglycaemic hyperinsulinaemic clamp in combination with the stable isotope technique; 2003; J Anim Physiol Anim Nutr; 87:86-95.
- Bastard J.P., Maachi, M., Lagathu, C., Kim, M.J., Caron, M., Vidal, H., Capeau, J., Feve, B., 2006. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. European Cytokine Network 17, 4–12.
- Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. Immunol Today. 1994 Feb;15(2):74-80. Review.
- Behre, H.M., Simoni, M., Nieschlag, E., 1997. Strong association between serum levels of leptin and testosterone in men. Clinical Endocrinology 47, 237–240.
- Bernard A, Fevre-Montange M, Bencsik A, et al. Brain structures selectively targeted by Canine Distemper Virus in a mouse model infection. J Neuropath Exp Neur 1993;52(5):471–80.
- Bernard A, Cohen R, Khuth ST, et al. Alteration of the leptin network in late morbid obesity induced in mice by brain infection with canine distemper virus. J Virol 1999;73(9):7317–27.
- Bjorntorp B., Adipose tissue distribution and function, Int. J. Obes. 15 (1991) 67–81.
- Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, Juul A, Hertel NT, Müller J, Skakkebaek NE, Heiman ML, Birkett M, Attanasio AM, Kiess W, Rascher W. Contribution of

androgens to the gender difference in leptin production in obese children and adolescents. *J Clin Invest.* 1997 Aug 15;100(4):808-13.

- Borgadus C., Lillioja S., Ravussin E., 1986. Familial dependence on the resting metabolic rate. *New Englang J. of Medicine*, 315:96-100.
- Brown S., Atkins S. ,Bagley R., Carr A., Cowgill L., Davidson M., Egner B., Elliott J., Henik R., Labato M., Littman M., Polzin D., Ross L., Snyder P., Stepien R. Guidelines for the Identification, Evaluation, and Management of Systemic Hypertension in Dogs and Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine.* 2007. 21; 3: 542- 558.
- Buffington CK, Cowan GS Jr, Smith H. Significant Changes in the Lipid-Lipoprotein Status of Premenopausal Morbidly Obese Females following Gastric Bypass Surgery. *Obes Surg.*1994 Nov;4(4):328-335.
- Burkholder W.J. 1994. Body composition of dog determined by carcass composition analysis, deuterium oxide dilution, subjective and objective morphometry and bioelectrical impedance. PhD dissertation. Blacksburg, VA: Virginia Polytechnic Institute and State University: 357.
- Burkholder W.J., Bauer J.E. Foods and techniques for managing obesity in companion animals; 1998 *J. Am Vet. Medic. Assoc.* 5, 658-662.
- Burkholder, W. J. & Thatcher, C. D. Validation of predictive equations for use of deuterium oxide dilution to determine body composition of dogs. 1998.*Am. J. Vet. Res.* 59:927-937.

- Burkholder W.J., Taylor, L. & Hulse, D.A. Weight loss to optimal body condition increases ground reactive force in dogs with osteoarthritis. Proceedings. 2000 Purina Nutritional Forum. Research Abstracts, p. 74.
- Burkholder W.J. Precision and practicality of methods of assessing body composition of dogs and cats. 2001 Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, 23 (Suppl. A): 1-10.
- Campfield L.A., Smith F.J., Guisez Y. 1995. Recombinant mouse ob protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. Science, 269: 543-546.
- Catchpole B, Ristic JM, Fleeman LM, Davison LJ. Canine diabetes mellitus: can old dogs teach us new tricks? Diabetologia 2005 Oct; 48(10):1948-56. Epub 2005 Sep 8. Review.
- Chan YY, Grafstein-Dunn E, Delemarre-van de Waal HA, Burton KA, Clifton DK, Steiner RA. The role of galanin and its receptor in the feedback regulation of growth hormone secretion. Endocrinology.1996 Dec; 137(12):5303-10.
- Chehab FF, Qiu J, Mounzih K, Ewart-Toland A, Ogus S. Leptin and reproduction. Nutr Rev. 2002 Oct;60(10 Pt 2):S39-46; discussion S68-84, 85-7. Review.
- Chikamune T., Katamoto H., Ohashi F. and Y. Shimada; Serum lipid and lipoprotein concentrations in obese dogs; 199; J Vet Med Sci 57:595-8.
- Chung K.F., Barnes, P.J., 1999. Cytokines in asthma. Thorax 54, 825-857.

- Cinti S. The adipose organ. Prostaglandine, Leukotrienes and Essenzial Fatty Acid (2005); 9-15.
- Cline M.G, S. Lauten, Sherry Cox and J. W. Bavgates. The relationship between Obesity and Marker of Oxydative Stress in dogs. Journal of animal Physiology and Animal Nutrition 93 (2009) 141- 146.
- Colliard L, Ancel J, Benet JJ, Paragon BM, Blanchard G. Risk factors for obesity in dogs in France. J Nutr. 2006 Jul;136(7 Suppl):1951S-1954S.
- Considine, R.V., Sinha, M.K., Heiman, M.L., Kriauciunas, A., Stephen, T.W., Nyce, M.R., Ohannesian, J.P., Marco, C.C., McKee, L.J., Bauer, T.L., Caro, J.F., 1996. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. New England Journal of Medicine 334, 292-295.
- Clutton R.E.; The medical implications of canine obesity and their relevance to anaesthesia; 1988; Br Vet J; 144:21-8.
- Cnop, M., Landchild, M.J., Vidal, J., Havel, P.J., Knowles, N.G., Carr, D.R., Wang, F., Hull, R.L., Boyko, E.J., Retzlaff, B.M., Walden, C.E., Knopp, R.H., Kahn, S.E., 2002. The concurrent accumulation of intra-abdominal and sub-cutaneous fat explains the association between insulin resistance and plasma leptin concentrations. Distinct metabolic effect of two fat compartments. Diabetes 51, 1005–1015.
- Coady SA, Jaquish CE, Fabsitz RR, Larson MG, Cupples LA, Myers RH. Genetic variability of adult body mass index: a longitudinal assessment in framingham families. Obes Res. 2002 Jul;10(7):675-81.

- Colliard L., Ancel A. Benet J.J., Paragon B.M, Blanchard G.; Risk factors for obesity in dogs in France; 2006 J. Nutr. 136, 1951S-1954S.
- Cornell C.C. Kittleson Mark D., Della Torre P., Jens Ha'ggstro'm,. Lombard C. W., Pedersen H. D., Vollmar A., and Wey A. Allometric Scaling of M-Mode Cardiac Measurements in Normal Adult Dogs. J Vet Intern Med 2004;18:311–321.
- Daminet S, Jeusette I, Duchateau L. et al. Evaluation of thyroid function in obese dogs and in dogs undergoing a weight loss protocol. J Vet Med A 2003; 50: 213-218.
- De Rick A., De Schepper J.; Decreased endurance as a clinical sign of disease in the dog; 1980; Vlaams Diergeneesk Tijdschr 49:307-21.
- Dhurandhar NV. Infectobesity: Obesity of infectious origin. J Nutr 2001;131(10):2794S–7S.
- Dhurandhar NV. Contribution of pathogens in human obesity. Drug News & Perspectives 2004;17(5):307–13.
- De Marchi G, Ferraccioli G. Leptin: regulatory role in bone metabolism and in inflammation. Reumatismo. 2002; 54(3):217-25.

- Di Girolamo M., J.B. Fine, K. Tagra, R. Rossmanith, Qualitative regional differences in adipose tissue growth and cellularity in male Wistar rats fed ad libitum, *Am. J. Physiol.* 274 (1998) R1460–R1467.
- Diez, M., Nguyen, P., Jeusette, I., Devois, C., Istasse, L. & Biourge, V. 2002. Weight loss in obese dogs: evaluation of a high-protein, lowcarbohydrate diet. *Journal of Nutrition*, 132, 1685S–1687S.
- Diez, M.; Michaux, C.; Jeusette, I.; Baldw, P.; Istasse, L.; Biourge, V., 2004: Evolution of blood parameters during weight loss in experimental obese Beagle dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 88, 166–171.
- Diez M.;; Weight loss in obese dogs – Evaluation of a high protein and low carbohydrates diet; 2004; *J. Nutr.* 132, 1685S-1687S.
- Dixon R.M., Reid S.W., Mooney C.T. 1999. Epidemiological, clinical haematological and biochemical characteristics of canine hypothyroidism. *Vet. Rec.*, 145: 481-487.
- Drost, W.T., Couto, C.G., Fischetti, A.J., Mattoon, J.S., Iazbik, C., 2006. Comparison of glomerular filtration rate between greyhounds and non-Greyhound dogs. *J. Vet.Int. Med.* 20, 544–546.
- Dumond, H., Presle, N., Terlain, B., Mainard, D., Loeuille, D., Netter, P., Pottie, P., 2003. Evidence for a key role of leptin in osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism* 48, 3118-3129

- Edney A.B.T., Smith P.M. 1986. Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. *Vet. Rec.*, 118: 391-396.
- Eisele I, Wood IS, German AJ, Hunter L, Trayhurn P. Adipokine gene expression in dog adipose tissues and dog white adipocytes differentiated in primary culture. *Hormone Metab Res* 2005;37:474–81.
- Elliott D.A., Backus R.C. Van Loan M.D. & Rogers, Q.R. Evaluation of multifrequency bioelectrical impedance analysis for the assessment of extracellular and total body water in healthy cats; 2002; *J Nutr*; 132:1757S-1759S.
- Elliott D.A., Backus R.C., Van Loan M.D. & Rogers Q.R. Extracellular water and total body water estimated by multifrequency bioelectrical impedance analysis in healthy cats: a cross-validation study; 2002b; *J Nutr*; 132:1760S-1762S.
- Ettinger S.J., Dyspnea Tachypnea; in Ettinger S.J., ed. *Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the dog and cat*; Philadelphia; 1983; 2nd ed; WB Saunders Company, 97-99.
- Fall T, Hamlin HH, Hedhammar A, Kämpe O, Egenvall A. Diabetes mellitus in a population of 180,000 insured dogs: incidence, survival, and breed distribution. *J Vet Intern Med.* 2007 Nov-Dec;21(6):1209-16.
- Faraj M, Havel PJ, Phélis S, Blank D, Sniderman AD, Cianflone K. Plasma acylation-stimulating protein, adiponectin, leptin, and ghrelin before and after weight loss induced by gastric bypass surgery in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Apr;88(4):1594-602.



- Fernandez-Real JM, Broch M, Vendrell J, Ricart W. Smoking, fat mass and activation of the tumor necrosis factor-alpha pathway. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 Dec;27(12):1552-6.
- Ferrari R. The importance of cachexia in the syndrome of heart failure. *Eur Heart J*. 1997 Feb;18(2):187-9
- Festa A., D'Agostino R. Jr., Williams K., A.J. Karter, E.J. Mayer-Davis and R.P. Tracy; The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation; 2001; *Int J Obes Relat Metab Disord*; 25:1407-15.
- Fettman M.J., Stanton C.A., Banks L.L. 1997. Effect of neutering on body weight, metabolic rate and glucose tolerance of domestic cats. *Res. Vet. Sci.*, 62: 131-136.
- Fisher A., Waterhouse TD, Adams AP. Obesity: it's relation to anaesthesia. *Anaesthesia* 1975; 30: 633- 647.
- Flournoy WS, Wohl JS, Macintire DK. Heatstroke in dogs: pathophysiology and predisposing factors. *Comp Cont Educ* 2003; 6: 410- 418.
- Frayn KN, Karpe F, Fielding BA, Macdonald IA, Coppack SW. Integrative physiology of human adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 Aug;27(8):875-88. Review.

- Frederich, R.C., Hamann, A., Anderson, S., Löllmann, B., Lowell, B.B., Flier, J.S., 1995. Leptin levels reflect body lipid content in mice: Evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nature Medicine* 1, 1311-1314.
- Foster KF, Lukaski HC: Whole-body impedance - what does it measure ? *Am J Clin Nutr* 64:388S- 396S, 1996.
- Frederich RC Jr, Kahn BB, Peach MJ, Flier JS. Tissue-specific nutritional regulation of angiotensinogen in adipose tissue. *ypertension*. 1992 Apr;19(4):339-44.
- Freeman LM, Brown DJ, Rush JE. Assessment of degree of oxidative stress and antioxidant concentrations in dogs with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Vet Med Assoc*. 1999 Sep 1;215(5):644-6.
- Friedman, J. M & Halaas, J. L. Leptin e regulation of body weight in mammals. *Nature* 395, 763- 770 (1998)
- Frühbeck, G., Gómez-Ambrosi, J., Muruzábal, F.J., Burrell, M.A., 2001. The adipocyte: A model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism* 280, 827–847.
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M., Shimomura, I., 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation* 114, 1752-1761.

- Gardin JM, McClelland R, Kitzman D, et al. M-mode echocardiographic predictors of six- to seven-year incidence of coronary heart disease, stroke, congestive heart failure, and mortality in an elderly cohort (the Cardiovascular Health Study). *Am J Cardiol* 2001;87:1051–1057
- Gayet C, Bailhache E, Dumon H, Martin L, Siliart B, Nguyen P. Insulin resistance and changes in plasma concentration of TNF $\alpha$ , IGF1, and NEFA in dogs during weight gain and obesity. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2004 Apr;88(3-4):157-65.
- Gerasimos S., Tsilias K., Venetsanou K., Karambinos E., Manolatos D., Kranidis A., Antonellis J., Kardaras F., Anthopoulos L., Baltopoulos G. Leptin serum levels in cachectic heart failure patients: Relationship with tumor necrosis factor- $\alpha$  system. *International Journal of Cardiology*. 2000. 76; 2:117- 122.
- German, A.J., Hervera, M., Hunter, L., Holden, S.L., Morris, P.J., Biourge, V., Trayhurn, P., 2009. Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. *Domestic Animal Endocrinology* 37, 214-226.
- German, A.J., Ryan, V.H., German, A.C., Wood, I.S., Trayhurn, P., 2010. Obesity, its associated disorders and the role of inflammatory adipokines in companion animals. *The Veterinary Journal* 185, 4–9.
- Glickman L.T., Sonnenschein E.G., Glickman N.T. 1995. Pattern of diet and obesity in female adult pet dogs. *Veterinary Clinical Nutrition*, 2: 6-13.
- Goldfine AB, Kahn CR. Adiponectin: linking the fat cell to insulin sensitivity. *Lancet*. 2003 Nov 1;362(9394):1431-2.

- González M, del Mar Bibiloni M, Pons A, Llompарт I, Tur JA. Inflammatory markers and metabolic syndrome among adolescents. *Eur J Clin Nutr.* 2012 Oct;66(10):1141-5.
- Guerre-Millo, M., 2006. Adipose tissue secretory function: Implication in metabolic and cardiovascular complications of obesity. *Journal de la Société de Biologie* 2006, 37–43.
- Gregor MF, Hotamisligil GS (2007) Adipocyte stress: the endoplasmic reticulum and metabolic disease. *J Lipid Res* 48:1905–1914
- Ha H, Lee HB. Reactive oxygen species as glucose signaling molecules in mesangial cells cultured under high glucose. *Kidney Int Suppl.* 2000 Sep;77:S19-25. Review.
- Laflamme D.,: Development and validation of a body condition score system for dogs; 1997; *Canine Practice* 22, 10–15.
- Laflamme D.P.; Kuhlman G., The effect of weight loss regimen on subsequent weight maintenance in dogs; 1995; *Nutr. Res.* 15, 1019-1028.
- Lauten, S.D., Cox, N.R., Brawner Jr., W.R., Baker, H.J., 2001. Use of dual energy X-ray absorptiometry for noninvasive body composition measurements in clinically normal dogs. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1295-1301.
- Lawler, D.F., Larson, B.T., Ballam, J.M., Smith, G.K., Biery, D.N., Evans, R.H., Greeley, E.H., Segre, M., Stowe, H.D., Kealy, R.D., 2008. Diet restriction and ageing in the dog: major observations over two decades. *Br. J. Nutr.* 99, 793–805.

- Lekcharoensuk C, Lulich JP, Osborne CA, Pusoonthornthum R, Allen TA, Koehler LA, Ulrich LK, Carpenter KA, Swanson LL. Patient and environmental factors associated with calcium oxalate urolithiasis in dogs. J Am Vet Med Assoc. 2000 Aug 15;217(4):515-9.
- Lemonnier D., Effect of age, sex, and site on the cellularity of the adipose tissue in mice rendered obese by a high fat diet, J. Clin. Invest. 51 (1972) 2907–2915.
- Lekcharoensuk C., Lulich J.P., Osborne C.A., Koehler la Carpenter, K.A. and Swanson; Patient and environmental factors associated with calcium oxalate urolithiasis in dogs; 2000; J Am Vet Med Assoc; 217(4): 515-9.
- Leroy P, Dessolin S, Villageois P, Moon BC, Friedman JM, Ailhaud G, Dani C. Expression of ob gene in adipose cells. Regulation by insulin. J Biol Chem. 1996 Feb 2;271(5):2365-8.
- Lewis & MacDonald (1933).Concentration of H2 Isotope. The Journal of Chemical Physics 1: 341.
- Lewis L.D., Morris M.L., Hand M.S. 1987. Small animal clinical nutrition III. Mark Morris Associates, Topeka, Kansas.
- Lewis L.D.; Obesity in the dog; 1978; J Am Anim Hosp Assoc; 14:402-9.
- Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. N Engl J Med. 1990 Jul 26;323(4):236-41.
- Leyva F, Anker SD, Egerer K, Stevenson JC, Kox WJ, Coats AJ. Hyperleptinaemia in chronic heart failure. Relationships with insulin. Eur Heart J.

1998 Oct;19(10):1547-51.

- Lifson, N., Gordon, G. B. & McClintock, R. (1955) Measurement of total dioxide production by means of D<sub>2</sub><sup>18</sup>O. *J. Appl. Physiol.* 7:704-710.
- Lindblad-Toh K, Wade CM, Mikkelsen TS, Karlsson EK, Jaffe DB, Kamal M, Clamp M, Chang JL, Kulbokas EJ 3rd, Zody MC, Mauceli E, Xie X, Breen M, Wayne RK, Ostrander EA, Ponting CP, Galibert F, Smith DR, DeJong PJ, Kirkness E, Alvarez P, Biagi T, Brockman W, Butler J, Chin CW, Cook A, Cuff J, Daly MJ, DeCaprio D, Gnerre S, Grabherr M, Kellis M, Kleber M, Bardeleben C, Goodstadt L, Heger A, Hitte C, Kim L, Koepfli KP, Parker HG, Pollinger JP, Searle SM, Sutter NB, Thomas R, Webber C, Baldwin J, Abebe A, Abouelleil A, Aftuck L, Ait-Zahra M, Aldredge T, Allen N, An P, Anderson S, Antoine C, Arachchi H, Aslam A, Ayotte L, Bachantsang P, Barry A, Bayul T, Benamara M, Berlin A, Bessette D, Blitshteyn B, Bloom T, Blye J, Boguslavskiy L, Bonnet C, Boukhgalter B, Brown A, Cahill P, Calixte N, Camarata J, Cheshatsang Y, Chu J, Citroen M, Collymore A, Cooke P, Dawoe T, Daza R, Decktor K, DeGray S, Dhargay N, Dooley K, Dooley K, Dorje P, Dorjee K, Dorris L, Duffey N, Dupes A, Egbiremolen O, Elong R, Falk J, Farina A, Faro S, Ferguson D, Ferreira P, Fisher S, FitzGerald M, Foley K, Foley C, Franke A, Friedrich D, Gage D, Garber M, Gearin G, Giannoukos G, Goode T, Goyette A, Graham J, Grandbois E, Gyaltsen K, Hafez N, Hagopian D, Hagos B, Hall J, Healy C, Hegarty R, Honan T, Horn A, Houde N, Hughes L, Hunnicutt L, Husby M, Jester B, Jones C, Kamat A, Kanga B, Kells C, Khazanovich D, Kieu AC, Kisner P, Kumar M, Lance K, Landers T, Lara M, Lee W, Leger JP, Lennon N, Leuper L, LeVine S, Liu J, Liu X, Lokyitsang Y, Lokyitsang T, Lui A, Macdonald J, Major J, Marabella R, Maru K, Matthews C, McDonough S, Mehta T, Meldrim J, Melnikov A, Meneus L, Mihalev A, Mihova T, Miller K, Mittelman R, Mlenga V, Mulrain L, Munson G, Navidi A, Naylor J, Nguyen T, Nguyen N, Nguyen C, Nguyen T, Nicol R, Norbu N, Norbu C, Novod N, Nyima T, Olandt P, O'Neill B, O'Neill K, Osman S, Oyono L, Patti C, Perrin D, Phunkhang P, Pierre F, Priest M, Rachupka A, Raghuraman S, Rameau R, Ray V, Raymond C, Rege F, Rise C, Rogers J, Rogov P, Sahalie J, Settipalli S, Sharpe T, Shea T, Sheehan M, Sherpa N, Shi J, Shih D, Sloan J, Smith C, Sparrow T, Stalker J, Stange-Thomann N, Stavropoulos S, Stone C, Stone S, Sykes S, Tchuinga P, Tenzing P, Tesfaye S,

Thoulutsang D, Thoulutsang Y, Topham K, Topping I, Tsamla T, Vassiliev H, Venkataraman V, Vo A, Wangchuk T, Wangdi T, Weiland M, Wilkinson J, Wilson A, Yadav S, Yang S, Yang X, Young G, Yu Q, Zainoun J, Zembek L, Zimmer A, Lander ES. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*. 2005 Dec 8;438(7069):803-19.

- Lönnqvist F, Arner P, Nordfors L, Schalling M. Overexpression of the obese (ob) gene in adipose tissue of human obese subjects. *Nat Med*. 1995 Sep;1(9):950-3.
- Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, Klausner JS. Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US veterinary practices. *Int J Appl Res Vet Med* 2000;4:177–86.
- Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, et al. Prevalence and risk factors for obesity in adult cats from private US veterinary practices. *Intern J Appl Res Vet Med* 2005;3(2):88-96.
- Lund, E.M., Armstrong, P.J., Kirk, C.A., Klausner, J.S., 2006. Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US veterinary practices. *International Journal of Research in Veterinary Medicine* 4, 177–186.
- Maeda, K., Okubo, K., Shimomura, I., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., Matsubara, K., 1996. CDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1). *Biochemical and Biophysical Research Communications* 221, 286–289.
- Magni. Hormonal control of the neuropeptide Y system. *Curr Protein Pept Sci*. 2003 Feb;4(1):45-57. Review.
- Martin M., B. Siliart, H. J. W. Dumon and P. G. Nguyen. Hormonal disturbances associated with obesity in dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90 (2006) 355–360.

- Markel, M.D., & Bogdanske, J.J. (1994a). Dual-energy X-ray absorptiometry of canine femurs with and without fracture fixation devices. *American Journal of Veterinary Research*, Vol. 55, No. 6, (June 1994), pp. (862-866), ISSN 0002-9645.
- Markel, M.D., & Bogdanske, J.J. (1994b). The effect of increasing gap width on localized densitometric changes within tibial ostectomies in a canine model. *Calcified Tissue International*, Vol. 54, No. 2, (February 1994), pp. (155-159), ISSN 0171-967X.
- Marmor M, Willeberg P, Glickman LT, Priester WA, Cypress RH, Hurvitz AI. Epizootiologic patterns of diabetes mellitus in dogs. *Am J Vet Res* 1982;43:465–70.
- Mason E. Obesity in pet dogs; 1970; *Vet Rec*; 86:612-6.
- Matsuzawa, Y., 2006. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Letters* 580, 2917-2921.
- Mattheeuws D., Rottiers R., Bayens D. and Vermeu; Glucose tolerance and insulin response in obese dogs; . 1984. *J Am Anim Hosp Assoc*; 20:287-93.
- Matsubara M., Maruoka, S., Katayose, S., 2002. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *European Journal of Endocrinology* 147, 173–180.
- Mazaki-Tovi, M., Feuermann, Y., Segev, G., Klement, E., Yas-Natan, E., Farkas, A., Kol, B. A., Shamay, A., 2010. Increased serum leptin and insulin concentrations in canine hypothyroidism. *The Veterinary Journal* 183, 109-114.
- Mawby D., Bartges J.W., Moyers T., D'Avignon A., Laflamme D.P., Moyers T.D., Cottrell T.; Comparison of body fat estimates by dual-energy X-ray absorptiometry and by deuterium oxide dilution in client-owned dogs; 2000; in



Proceedings of the 6th educational workshop in pet food labelling and regulations at The 2000 Purina Nutrition Forum, Saint Louis, Missouri October 19-22, 2000:127.

- Mawby, D.I., Bartges, J.W., d'Avignon, A., Laflamme, D.P., Moyers, T.D., & Cottrell, T. (2004). Comparison of various methods for estimating body fat in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, Vol. 40, No. 2, (March-April 2004), pp. (109-114), ISSN 0587-2871.
- McGreevy, P.D., Thomson, P.C., Pride, C., Fawcett, A., Grassi, T., Jones, B., 2005. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. *Vet. Rec.* 156, 695–702.
- Mehlman E., Bright J. M., Jeckel K., Porsche C., Veeramachaneni D.N.R., and Frye M. Echocardiographic Evidence of Left Ventricular Hypertrophy in Obese Dogs. *J Vet Intern Med* 2013;27:62–68
- Mizelle HL, Edwards TC, Montani JP. Abnormal cardiovascular responses to exercise during the development of obesity in dogs. *Am J Hypertens* 1994;7(4 Pt 1):374–378.
- Meyer H., Drochner W., Weidenhaupt C. 1978. Ein beitrag zum vorkommen und zur behandlung der adipositas des hundes. *Deutsche Tierarztliche Wochenschrift*, 85: 133-136.
- Mizelle HL, Edwards TC, Montani JP. Abnormal cardiovascular responses to exercise during the development of obesity in dogs. *Am J Hypertens* 1994;7(4 Pt 1):374–378.
- Morookma.T., Niiyama,E . Uchida, M. Saito M. Uemura, K. Miyoshine D. Measurement of the back fat laver in beagles for estimation of obesik using two-dimensional ultrasonography. *Journal of Small Animal Practice* (2001) 42:56-59

- Munday H.S., Booles D., Anderson P., Poore D.W., Earle K.E.; The repeatability of body composition measurements in dogs and cats using dual energy X-ray Absorptiometry; 1994; J. Nutr; 124:2619S-2621S.
- Muse ED, Obici S, Bhanot S, Monia BP, McKay RA, Rajala MW, Scherer PE, Rossetti L. Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. J Clin Invest. 2004 Jul;114(2):232-9.
- Mussa P.P., Prola L., Meineri G., Obesity in dog: a survey results in Italy. Proceedings of the 10<sup>th</sup> ESVCN Congress; 2004; Nantes ,France; 5-7 October 2006.
- Nelson RW, Himsel CA, Feldman EC, Bottoms GD. Glucose tolerance and insulin response in normal-weight and obese cats. Am J Vet Res. 1990 Sep;51(9):1357-62.
- Newberne PM. Overnutrition and resistance of dogs to distemper virus. Fed Proc 1966;25: 1701- 1710.
- NIH (National Institute of Health). Clinical guidelines on the identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults. The evidence report. NIH Publication, N° 98- 4083, September 1998, 228 pp.
- Niebauer J, Volk HD, Kemp M, Dominguez M, Schumann RR, Rauchhaus M, Poole-Wilson PA, Coats AJ, Anker SD. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. Lancet. 1999 May 29;353(9167):1838-42.

- Otero M., Gomez Reino, J.J., Gualillo, O., 2003. Synergistic induction of nitric oxide synthase type II: in vitro effect of leptin and interferon-gamma in human chondrocytes and ATDC5 chondrogenic cells. *Arthritis and Rheumatism* 48, 404-409.
- Ouchi N., Ohishi, M., Kihara, S., Funahashi, T., Nakamura, T., Nagaretani, H., Kumada, M., Ohashi, K., Okamoto, Y., Nishizawa, H., Kishida, K., Maeda, N., Nagasawa, A., Kobayashi, H., Hiraoka, H., Komai, N., Kaibe, M., Rakugi, H., Ogihara, T., Matsuzawa, Y., 2003. Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity. *Hypertension* 42, 231–234.
- Owen O.E. 1988. Obesity. In: Kinney J.M., Jeejeebhoy K.N., Hill G.L., eds. *Nutrition and metabolism in patient care*. Philadelphia, PA: WB Saunders Co, 167-192.
- Pace N. & Rathburn, E. N. (1945) Studies on body composition. III. The body water and chemically combined nitrogen content in relation to fat content. *J. Biol. Chem.* 158:685-691.
- Pak- Son IL, Youn- Hwa Young, Pak SI et al. Risk factors for *Malassezia pachydermatis*- associated dermatitis in dogs: a case- control study. *Kor J Vet Clin Med* 1999; 16: 80-5.
- Panciera DL. An echocardiographic and electrocardiographic study of cardiovascular function in hypothyroid dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1994 Oct 1;205(7):996-1000.
- Panciera D.L. 2001. Conditions associated with canine hypothyroidism. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 31: 935-950.
- Parker, H.G., Kim, L.V., Sutter, N.B., Carlson, S., Lorentz ed, T.D., 2004. Genetic structure of the purebred domestic dog. *Science* 304, 1160-1164.

- Parker, H.G., Ostrander, E.A., 2005. Canine genomics and genetics: running with the pack. *PLoS Genet.* 1, 58.
- Pasarica M, Dhurandhar NV. Infectobesity: obesity of infectious origin. *Advances in food and nutrition research* 2007;52:62–102.
- Pellemounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T & Collins F. 1995. Effects of the obese gene-product on body-weight regulation in OB/OB mice. *Science* 269 540–543.
- Petersen EW, , Nielsen **JP.**, Heegaard PMH. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. 2004. *Vet. Res.* 35 163-187
- Petersen EW, Carey AL, Sacchetti M, Steinberg GR, Macaulay SL, Febbraio MA, Pedersen BK. Acute IL-6 treatment increases fatty acid turnover in elderly humans in vivo and in tissue culture in vitro. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005 Jan;288(1):E155-62.
- Pierroz DD, Aebi AC, Huhtaniemi IT, Aubert ML. Many LH peaks are needed to physiologically stimulate testosterone secretion: modulation by fasting and NPY. *Am J Physiol.* 1999 Apr;276(4 Pt 1):E603-10.
- Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA.* 2004 Apr 14;291(14):1730-7.
- Plomgaard P, Keller P, Keller C, Pedersen BK. TNF-alpha, but not IL-6, stimulates plasminogen activator inhibitor-1 expression in human subcutaneous adipose tissue. *J Appl Physiol.* 2005 Jun;98(6):2019-23

- Poli G. & Cocilovo A. Microbiologia e immunologia veterinaria, 1998,
- Pounteau E., Dumon H., Nguyen P. et al. Whole body, peripheral and intestinal endogenous acetate turnover in dogs using stable isotopes. J Nutr 1998; 128: 111-115.
- Rabe K., Lehrke, M., Parhofer, K.G., Broedl, U.C., 2008. Adipokines and insulin resistance. Molecular Medicine 14, 741–751.
- Raffan, E., Holden, S.L., Cullingham, F., Hackett, R.M., Rawlings, J.M., German, A.J., 2006. Standardized positioning is essential for precise determination of body composition using dual-energy X-ray absorptiometry in dogs. J. Nutr. 136, 1976S-1978S.
- Ravussin E, Heilbronn LK, Smith SR, The insulin-sensitizing role of the fat derived hormone adiponectin. Curr Pharm Des. 2003;9(17):1411-8. Review.
- Rajala MW, Scherer PE (2003) The adipocyte—at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. Endocrinology 144:3765–3773.
- Reisin E, Alpert MA. Definition of the metabolic syndrome: current proposals and controversies. Am J Med Sci 2005;330:269–72.
- Renehan A.G., Frystyk, J., Flyvbjerg, A., 2006. Obesity and cancer risk: the role of the insulin-IGF axis. Trends in Endocrinology and Metabolism 17, 328–336.
- Rider OJ, Petersen SE, Francis JM, et al. Ventricular hypertrophy and cavity dilatation in relation to body mass index in women with uncomplicated obesity. Heart 2011;97:203 –208
- Robertson I.D. 2003. The association of exercise, diet and other factors with owner-perceived obesity in privately owned dogs from metropolitan Perth, WA. Preventive Veterinary Medicine, 58: 75-83.

- Rocchini AP, Moorehead CP, Deremer S, et al: Pathogenesis of weight-related pressure changes in blood -pressure in dogs. *Hypertension* 1989;13:922–928.
- Rohner-Jeanrenaud F. Aspects of the neuroendocrine regulation of body weight homeostasis. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2002 Apr;63(2 Pt 1):125-8.
- ;
- Rosen ED, Spiegelman BM (2006) Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* 444:847–853.
- Ryan H V., German A. J., Wood I. S., Hunter L., Morris P., Trayhurn P. Adipokine expression and secretion by canine adipocytes: stimulation of inflammatory adipokine production by LPS and TNF-  $\alpha$ . *Pflugers Arch- Eur Physiol* (2010); 460: 603- 616.
- Ryan VH, German AJ, Wood IS, Hunter L, Morris P, Trayhurn P. NGF Gene expression and secretion by canine adipocytes in primary culture: upregulation by the inflammatory mediators LPS and TNF-  $\alpha$ . *Hormone Metab Res* 2008;40:861–8.
- Ryo, M., Nakamura, T., Kihara, S., Kumada, M., Shibazaki, S., Takahashi, M., Nagai, M., Matsuzawa, Y., Funahashi, T., 2004. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circulation Journal* 68, 975–981.
- Sagawa, M.M., Nakadomo, F., Honjoh, T., Ishioka, K., Saito, M., 2002. Correlation between plasma leptin concentration and body fat content in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 63, 7–10.
- Schalling M., Johansen J., Nordfors L., Lonnqvist F.; Genes involved in animal models of obesity and anorexia; 1999; *J Int Med*; 245:613-9.
- Schoeller D. A., Santen, E. V., Peterson, D. W., Dietz, W., Jaspan, J. & Klein, P. D. (1980) Total body water measurement in humans with  $^{18}\text{O}$ - and  $^2\text{H}$ -labelled water. *Am. J. Clin. Nutr.* 33:2286-2293.

- Shimizu, H., Shimomura, Y., Nakanishi, Y., Futawatari, T., Ohtani, K., Sato, N., Mori, M., 1997. Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *Journal of Endocrinology* 154, 285-292.
- Schulze PC, Kratzsch J, Linke A, Schoene N, Adams V, Gielen S, Erbs S, Moebius-Winkler S, Schuler G. Elevated serum levels of leptin and soluble leptin receptor in patients with advanced chronic heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2003 Jan;5(1):33-40.
- Shore, S.A., 2007. Obesity and asthma: lessons from animal models. *Journal of Applied Physiology* 102, 516–528.
- Sinha YN, Lewis UJ. A lectin-binding immunoassay indicates a possible glycosylated growth hormone in the human pituitary gland. *Biochem Biophys Res Commun.* 1986 Oct 30;140(2):491-7.
- Son HR., d'Avignon DA, Laflamme DP. Comparison of dual x- ray absorptiometry and measurement of total body water content by deuterium oxide dilution for estimating body composition in dog. *Am J Vet Res* 1998; 59: 529-532.
- Sowers M, Jannausch M, Stein E, Jamadar D, Hochberg M, Lachance L. C-reactive protein as a biomarker of emergent osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2002 Aug;10(8):595-601.
- Speakman, J.R., Booles, D., Butterwick, R., 2001. Validation of dual energy X-ray absorptiometry (DXA) by comparison with chemical analysis of dogs and cats. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 25, 439–447.
- Speakman, J.R., van Acker, A., Harper, E.J., 2003. Age-related changes in the metabolism and body composition of three dog breeds and their relationship to life expectancy. *Aging Cell.* 2, 265-275.

- Sainsbury A, Cooney GJ, Herzog H. Hypothalamic regulation of energy homeostasis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2002 Dec;16(4):623-37.
- Sonta T, Inoguchi T, Tsubouchi H, Sekiguchi N, Kobayashi K, Matsumoto S, Utsumi H, Nawata H. Evidence for contribution of vascular NAD(P)H oxidase to increased oxidative stress in animal models of diabetes and obesity. *Free Radic Biol Med.* 2004 Jul 1;37(1):115-23.
- Sowers M, Jannausch M, Stein E, Jamadar D, Hochberg M, Lachance L. C-reactive protein as a biomarker of emergent osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2002 Aug;10(8):595-601.
- Spranger, J., Kroke, A., Mohlig, M., Hoffmann, K., Bergmann, M.M., Ristow, M., Boeing, H., Pfeiffer, A.F., 2003. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) Potsdam Study. *Diabetes* 52, 812-817.
- Stanton C.A., Hamar D.W., Johnson D.E. 1992. Bioelectrical impedance and zoometry for body composition analysis in domestic cats. *Am. J. Vet. Res.*, 53: 251-257.
- Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature.* 2001 Jan 18;409(6818):307-12.
- Sukkar MB, Hughes JM, Armour CL, Johnson PR. Tumour necrosis factor-alpha potentiates contraction of human bronchus in vitro. *Respirology.* 2001 Sep;6(3):199-203.



- Sunvold GD, Bouchard GF. The glycemic response to dietary starch. In: reced advances in canine and feline nutrition. Iams nutrition symposium proceedings vol 2, 1998a: 123- 131.
- Thamilselvan S, Byer KJ, Hackett RL, Khan SR. Free radical scavengers, catalase and superoxide dismutase provide protection from oxalate-associated injury to LLC-PK1 and MDCK cells. J Urol. 2000 Jul;164(1):224-9.
- Thomas, P.S., 2001. Tumour necrosis factor-alpha: the role of this multifunctional cytokine in asthma. Immunology and Cell Biology 79, 132-140.
- Trayhurn, P., Wood, I.S., 2004. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. British Journal of Nutrition 92, 347-355. Um, J.Y., Chung, H.S., Song, M.Y., Shin, H.D., Kim, H.M., 2004. Association of interleukin-1beta gene polymorphism with body mass index in women. Clinical Chemistry 50, 647-650.
- Trayhurn P, Beattie JH . Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. 2001; Proc Nutr Soc 60:329–339.
- Trayhurn P, Bing C, Wood IS. Adipose tissue and adipokines--energy regulation from the human perspective. J Nutr. 2006 Jul;136(7 Suppl):1935S-1939S. Review.
- Tumuklu MM, Etikan I, Kisacik B, Kayikcioglu M. Effectof obesity on left ventricular structure and myocardial systolicfunction: assessment by tissue Doppler imaging and strain/strain rate imaging. Echocardiography 2007;24:802–809.
- Tvarijonaviciute A, Gutiérrez AM, Miller I, Razzazi-Fazeli E, Tecles F, Ceron JJ. A proteomic analysis of serum from dogs before and after a controlled weight-loss program. Domest Anim Endocrinol. 2012 Nov;43(4):271-7.

- Yamka RM, McLeod KR, Harmon DL, Freetly HC, Schoenherr WD. The impact of dietary protein source on observed and predicted metabolizable energy of dry extruded dog foods. *J Anim Sci.* 2007 Jan;85(1):204-12.
- Yamka RM, Harmon DL, Schoenherr WD, Khoo C, Gross KL, Davidson SJ, Joshi DK. In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal, conventional soybean meal, and low-oligosaccharide low-phytate soybean meal. *Am J Vet Res.* 2006 Jan;67(1):88-94.
- Yilmaz, Z., Ilcol, Y.O., Golcu, E., 2007. Serum leptin and ghrelin levels in response to methylprednisolone injection in healthy dogs. *Research in Veterinary Science*82, 187-194.
- Yudkin JS (2003) Adipose tissue, insulin action and vascular disease: inflammatory signals. *Int J Obesity* 27(Suppl 3):S25–S28.
- Um JY, Chung HS, Song MY, Shin HD, Kim HM. Association of interleukin-1beta gene polymorphism with body mass index in women. *Clin Chem.* 2004 Mar;50(3):647-50. No abstract available.
- Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Morioka K, Maruyama N, Kitagawa N, Tanaka T, Hori Y, Nakatani K, Yano Y, Adachi Y. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men.*
- Wabitsch, M., Jensen, P.B., Blum, W.F., Christoffersen, C.T., Englaro, P., Heinze, E., Rascher, W., Teller, W., Tornqvist, H., Hauner, H., 1996. Insulin and cortisol promote leptin production in cultured human fat cells. *Diabetes* 45, 1435–1438.
- Wang Z., Deurenberg, P., Wang, W., Pietrobelli, A., Baumgartner, R. N. & Heymsfield, S. B. (1999) Hydration of fat-free body mass: review and critique of a classic body-composition constant. *Am. J. Clin. Nutr.* 69:833-841.

- Wang Z., Nakayama T. Inflammation, a Link between Obesity and Cardiovascular Disease. Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation Volume 2010.
- Weisberg, S.P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R.L., Ferrante, A.W., 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation* 112, 1796-1808.
- Williams GD, Newberne PM. Decreased resistance to salmonella infection in obese dogs. *Fed Proc* 1971; 30: 572.
- Wilkinson. M. J. A. & Mcewann.. A. (1991) Use of ultrasound in the measurement of subcutaneous fat and prediction of total body fat in dogs. *Journal of Nutrition* 121. S47-S50.
- Woloski, BM, Smith, EM, Meyer, WJ, Fuller, GM, Blalock, JE - Corticotropinreleasing activity of monokines.1985. *Science*230: 1035-7.
- World Health Organization; Obesity preventing and managing the global epidemic of a WHO Consultation on obesity; Geneva; 3-5 June 1997.
- Veniant MM, LeBel CP. Leptin: from animals to humans. *Curr Pharm Des.* 2003; 9(10):811-8. Review.
- Vincent van Ginneken, Laura Sitnyakowsky, Jonathan E. Jeffrey. Infectobesity: viral infections may be a cause of obesity. *Medical Hypotheses*, 72 (2009), 383-388.
- Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen H (2003) Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 112:1821–1830

- Zhang Y.Y. , R. Proenca, M. Maffei, et al., Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue, *Nature* 372(1994) 425–432.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., Friedman, J.M., 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372, 425–432.